



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Vegyésszérmézői és Biomérmézői Kar
Szerveetlen és Analitikai Kémia Tanszék

Szerkesztette:

POKOL GYÖRGGY

Írta:

**POKOL GYÖRGGY, GYURCSÁNYI E. RÓBERT,
SIMON ANDRÁS, BEZÚR LÁSZLÓ,
HORVAI GYÖRGGY, HORVÁTH VIOLA,
DUDÁS KATALIN MÁRIA**

Lektorálta:

KRISTÓF JÁNOS

ANALITIKAI KÉMIA

Egyetemi tananyag

2011



COPYRIGHT: © 2011-2016, Dr. Pokol György, Dr. Gyurcsányi E. Róbert, Dr. Simon András, Dr. Bezúr László, Dr. Horvai György, Dr. Horváth Viola, Dudás Katalin Mária, BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar
Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék

LEKTORÁLTA: Dr. Kristóf János, Pannon Egyetem

Creative Commons NonCommercial-NoDerivs 3.0 (CC BY-NC-ND 3.0)
A szerző nevének feltüntetése mellett nem kereskedelmi céllal szabadon másolható, terjeszthető, megjelentethető és előadható, de nem módosítható.

TÁMOGATÁS:

Készült a TÁMOP-4.1.2-08/2/A/KMR-2009-0028 számú, „Multidiszciplináris, modulrendszerű, digitális tananyagfejlesztés a vegyészmérnöki, biomérnöki és vegyész alapképzésben” című projekt keretében.



KÉSZÜLT: a [Typotex Kiadó](#) gondozásában

FELELŐS VEZETŐ: Votisky Zsuzsa

AZ ELEKTRONIKUS KIADÁST ELŐKÉSZÍTETTE: Waizinger József

ISBN 978-963-279-466-2

KULCSSZAVAK:

mennyiségi elemzés, minőségi elemzés, térfogatós analízis, titrimetria, elektroanalitikai módszerek, potenciometria, konduktometria, analitikai spektroszkópia, emissziós spektrometria, atomabszorpciós spektrometria, fluoreszcencia spektroszkópia, tömegspektrometria, kromatográfia, elektroforézis, immunanalitikai módszerek.

ÖSSZEFOGLALÁS:

A tananyag az analitikai kémiai tanulmányok – és a későbbi gyakorlati elemző munka - megalapozását szolgálja. Épít az általános kémiai, valamint az alapvető szervetlen és szerves kémiai és fizikai ismeretekre, és megadja az analitikai laboratóriumi gyakorlatok elméleti hátterét.

A bevezető fejezet az analitikai kémia alapfogalmait tárgyalja, gyakorlati mennyiségi elemzési példák segítségével. A fejezetet az analitika minőségbiztosításának alapjai zárják.

A bevezetést követően az anyag a legfontosabb mérés technikák, módszercsaládok szerint épül fel, bemutatva az egyes módszerek elvét, működését és alkalmazását, a kapcsolódó számításokat.

A klasszikus elemzési módszereket (sav-bázis, komplexometriás, csapadékos és redoxi titrálások, tömegszerinti elemzés) követően a műszeres analitikát: az elektroanalitikai, az atom- és molekulaszpektroszkópiás mérés technikákat, majd a legfontosabb elválasztási módszereket (gáz- és folyadékromatográfia, elektroforézis) mutatjuk be. Külön fejezet foglalkozik az immunreakciókon alapuló elemzési eljárásokkal.

Az analízis folyamatainak, a módszerek működésének és alkalmazási lehetőségeinek megértését nagyszámú ábra és animáció segíti. Az anyaghoz kapcsolódó videók a módszerek alapját képező jelenségeket szemléltetik, illetve analitikai eszközöket és műveleteket mutatnak be. Az egyes fejezetek végén kidolgozott számpéldák, valamint ellenőrző kérdések és számítási feladatok kaptak helyet.

TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETŐ	6
1. Bevezetés az analitikai kémiába	7
1.1. Alapfogalmak	7
1.2. Bevezető példák az analitika különböző területeiről	8
1.3. A mennyiségi meghatározás általános módszerei	20
1.4. Az elemzések minőségbiztosításának alapjai	20
II. KLASSZIKUS ANALITIKA	23
A. TITRIMETRIA	23
1. Bevezető	24
1.1. A MÉRŐADATOK KONCENTRÁCIÓJA	24
1.2. Titráltsági fok	25
2. Sav-bázis titrálások	26
2.1. Erős sav vagy erős bázis titrálása	26
2.2. Egyértékű gyenge sav vagy gyenge bázis titrálása	33
2.3. Többértékű savak és bázisok titrálása	40
2.4. Sav-bázis titrálások nemvizes közegben	44
2.5. Kérdések és számolási feladatok	45
3. Komplexometria	51
3.1. Bevezető	51
3.2. Kelatometriás titrálás	52
3.3. Kérdések és számolási feladatok	58
4. Csapadékos Titrálás	59
4.1. Argentometria	59
4.2. Kérdések és számolási feladatok	65
5. Redoxi titrálás	67
5.1. Bevezető	67
5.2. Permanganometria	73
5.3. Jodometria	75
5.4. Bromatometria	78
5.5. Cerimetria	78
5.6. Kromatometria	78
5.7. Kérdések és számítási feladatok	79
II. KLASSZIKUS ANALITIKA	83
B. GRAVIMETRIA	83
1. Bevezető	84
1.1. Gravimetriás mérésre példa	84
1.2. Csapadékképző mérési módszerek összehasonlítása	86

1.3. Kérdések és számítási feladatok.....	86
III. MŰSZERES ANALITIKA	87
A. ELEKROANALITIKA	87
1. Bevezető	88
2. Potenciometria.....	91
2.1. Bevezetés.....	91
2.2. Galváncellák.....	92
2.3. Referenciaelektrod (Vonatkozási elektrod).....	95
2.4. Indikátorelektrodok	100
3. Konduktometria.....	120
3.1. A vezetés meghatározása.....	120
3.2. Konduktometriás titrálások	124
4. Kérdések és számítási feladatok.....	129
III. MŰSZERES ANALITIKA	131
B. SPEKTROSKÓPIA.....	131
1. Optikai spektroszkópia	132
1.1. Bevezető	132
1.2. Az optikai spektrométerek felépítése	144
2. Atomspektroszkópia	167
2.1. Bevezető	167
2.2. Lángemissziós módszer, lángfotometria	201
2.3. Szikraspektrometria.....	202
2.4. Induktív csatolású plazma optikai emissziós módszer (ICP-OES)	204
2.5. Atomabszorpciós spektrometria (AAS)	216
2.6. Induktív csatolású plazma tömegspektrometriás (ICP-MS) módszer	238
3. Optikai molekulaszpektroszkópia	253
3.1. Ultraibolya-látható (UV-VIS) spektroszkópia.....	253
3.2. Lumineszcenciaspektroszkópia	264
3.3. Infravörös (IR) spektroszkópia.....	270
4. Tömegspektrometria.....	284
4.1. Bevezető	284
4.2. A tömegspektrométerek részegységei	289
5. Ellenőrző kérdések	302
5.1. Általános spektroszkópiai kérdések	302
5.2. Atomspektroszkópiai kérdések.....	302
5.3. Molekulaszpektroszkópiai kérdések	305
5.4. Tömegspektroszkópiai kérdések	306
III. MŰSZERES ANALITIKA	307
C. ELVÁLASZTÁSTECHNIKA.....	307

1. Bevezető	308
2. Kromatográfia	310
2.1. Bevezetés a kromatográfiába.....	310
2.2. Gázkromatográfia	330
2.3. Folyadékkromatográfia	351
3. Elektroforézis	359
3.1. Az elektroforézis rövid ismertetése	359
III. MŰSZERES ANALITIKA	364
D. IMMUNANALITIKA.....	364
1. Bevezető	365
1.1. Alapfogalmak	366
1.2. Az immunrendszer működése (olvasmány)	367
2. Az ellenanyag	369
2.1. Az ellenanyagok szerkezete	369
2.2. Az antigén-ellenanyag reakció egyensúlya	370
2.3. Az ellenanyagok egyedülálló tulajdonságai – az immunanalitikai módszer jellemzői ...	370
2.4. Az antigén-ellenanyag komplex szerkezete	370
2.5. Ellenanyagok előállítása analitikai célra	372
3. Antigén-antitest reakción alapuló analitikai mérések.....	376
3.1. A mérési módszerek csoportosítása.....	376
3.2. Jelölés nélküli technikák.....	376
3.3. Jelölt immunreagenst használó mérések – immunoassay-ek	380
4. Mennyiségi meghatározás immunoassay-ekkel	392
4.1. Kalibráció	392
4.2. Immunoassay-ek a gyakorlatban	393
5. Ellenőrző kérdések	398
IV. FÜGGELÉK.....	399
Irodalomjegyzék a Spektroszkópia (III.B.) fejezethez	400
Ábrák, videók, táblázatok jegyzéke.....	401
Ábrák	401
Videók	408
Táblázatok	408

I. BEVEZETŐ

Tartalom

1.	Bevezetés az analitikai kémiába	7
1.1.	Alapfogalmak	7
1.2.	Bevezető példák az analitika különböző területeiről	8
1.3.	A mennyiségi meghatározás általános módszerei	20
1.4.	Az elemzések minőségbiztosításának alapjai	20

1. BEVEZETÉS AZ ANALITIKAI KÉMIÁBA

1.1. ALAPFOGALMAK

Az analitikai kémia az anyagok minőségi és mennyiségi elemzésének módszereit, az elemzés általános lépéseit és szempontjait, a módszerek alkalmazási lehetőségeit, valamint az elemzési eredmények értékelésének és megbízhatóságának kérdéseit tárgyalja.

Annak ismeretére, hogy milyen anyaggal van dolgunk, a gyakorlat és a kutatás minden területén (és nem csak a kémiában és kémiai technológiákban) mindig szükség van. Elemzéseket végeznek a természet és a környezet leírásához, a technológiai folyamatok követéséhez, ipari termékek – köztük élelmiszerek, gyógyszerek – minőségének ellenőrzésére, illetve egészségügyi céllal.

- Az elemzések közvetlen eredményei a vizsgálati anyag összetételéről, szerkezetéről, tulajdonságairól adnak felvilágosítást. Az analitikus feladata azonban ezen túlmutat: értelmezni is kell az eredményt, következtetéseket kell levonnia a felhasználó számára (pl., hogy megfelelő-e az ivóvíz minősége, alkalmas-e a nyersanyag a feldolgozásra, biztonságos-e az élelmiszer). Ehhez jól kell ismernie a felhasználó **problémáját**,
- olyan módon kell **megfogalmaznia a mérési eredményeket**, hogy a felhasználó azt egyértelműen megértse,
- bizonyítania kell, hogy az általa szolgáltatott **eredmény megbízható**.

A tananyag az analitikai kémia alapfogalmait és legfontosabb módszereit ismerteti.

1.1.1. Egy vizsgálati anyag (pl.: felszíni víz) elemzése (analízis)

Minta: A vizsgálati anyag egy részlete (a folyóból kivett víz). **Részminta:** több vizsgálatához a mintát több részletre osztjuk.

Analát (analyte): a vizsgálandó, mérendő komponens (pl.: Pb) a mintában.

Mátrix: az analát melletti egyéb, kísérő komponensek együttese (szennyvíz) a mintában.

1.1.2. Az analitikai feladat lehet

Minőségi elemzés:

- mely komponensek vannak jelen a mintában, ezen belül
- **azonosítás** (identification), egy vagy több komponens minőségére vonatkozó feltételezés igazolása, pl.: a tableta fő tömege acetilszalicilsav (aszpirin),
- **kimutatás** (detection): a mintában a keresett komponens jelen van / „nincs jelen”.

Mennyiségi elemzés:

- **mérés, meghatározás** (measurement, determination): a kérdéses komponens koncentrációjának, mennyiségének meghatározása.

Szerkezet, tulajdonságok jellemzése.

A minőségi és a mennyiségi elemzés nem különülhet el élesen. Kimutatás esetében tudnunk kell, hogy mi az a határ, mely felett az adott módszerrel már észleljük a komponens jelenlétét; mennyiségi elemzés esetén biztosnak kell lennie, hogy a kívánt összetevőt, és csak azt mérjük, valamint általában meg kell adni, hogy az alkotó jelentős vagy kis mennyiségben van jelen.

1.1.3. Az analitikai mérések típusai

Beszélünk klasszikus analitikáról, illetve műszeres analitikáról. A következő fejezetekben ezeket a módszereket fejtjük ki részletesebben.

- **Klasszikus** analitika: csak pontos térfogat- és tömegmérő eszközök használatával,
- **műszeres** analitika: egyéb mérőeszközökre is szükség van.

1.2. BEVEZETŐ PÉLDÁK AZ ANALITIKA KÜLÖNBÖZŐ TERÜLETEIRŐL

1.2.1. Szabad zsírsavak mérése olajokban, szerves zsírokban – titrimetria

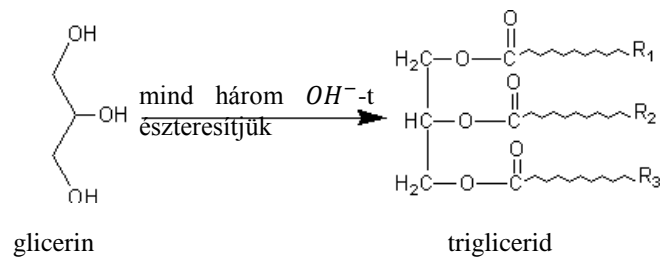
A szabad zsírsavtartalom

- befolyásolja a felhasználhatóságot: a sok szabad zsírsav ehetetlenné teszi a zsírokat, olajokat,
- gátolja a keményíthetőséget.

Az analitikai **feladat**: az összes szabad zsírsav meghatározása (mennyiségi elemzés).

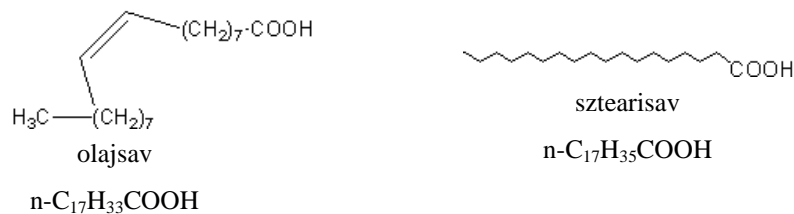
Az analít

A természetes olajok és zsírok fő tömegét a trigliceridek (a glicerín zsírsavas észterei) alkotják.



1.2.1.1. ábra. A trigliceridek szerkezeti képlete

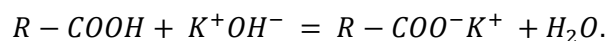
A zsírsavak általában egyenes láncúak, lehetnek telítettek vagy telítetlenek. Pl.:



1.2.1.2. ábra. Az olajsav és a sztearinsav szerkezeti képlete

A meghatározás alapvető kölcsönhatáson alapszik

A kölcsönhatás kiválasztása: reakció (kémiai/fizikai) **kiválasztása** → **sav-bázis reakció a legmegfelelőbb**:



A meghatározás lépései: zsírsavak teljes **semlegesítése** → mennyi reagens kell ehhez? → az eredményből zsírsavtartalom számítása.

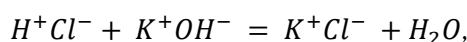
Módszer (térfogatós analízis = titrimetria)

1. A **KOH mérőoldatot** fokozatosan adjuk hozzá (KOH ismert koncentrációjú).
2. Keressük az **egyenértékpontot**, ekvivalenciapontot:
 - a mérendő komponens és a reagens mennyisége kémiaiilag egyenértékű.
Itt az egyenértékűség 1:1 mólarányt jelent, más esetekben ettől eltérő is lehet.
pl.: $(\text{COOH})_2 + 2 \text{K}^+\text{OH}^- = (\text{COO}^-\text{K}^+)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$
 - a KOH felhasznált térfogatából és ismert koncentrációjából számolhatjuk ki a zsírsav mennyiségét ($n_{\text{KOH}} = n_{\text{R-COOH}}$).

Kivitelezés

1. **Mintavétel** (legyen reprezentatív a minta: összetétele legyen azonos a vizsgálati anyag átlagos összetételével).
2. **Mintaelőkészítés:** szilárd szennyezők és víz eltávolítása → szűrőpapíron szűrés, majd dietil-éter (Et_2O) oldószerrel oldatkészítés.
3. **Titrlás.**
 - **Mérőoldat készítése:** alkoholos KOH (mert szerves anyagot akarunk titrálni), ennek készítése:
 - a KOH vizes oldatához etil-alkoholt ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) adunk (ilyenkor a KOH-ban lévő K_2CO_3 -át lecsapódik és kiszűrhető).
 - **Mérőoldat koncentrációjának meghatározása: faktorozás** (hatóérték meghatározása):
 - a pontos koncentráció kiszámítása bemérés alapján a KOH-nál nem lehetséges, ezért a pontos koncentrációt meg kell határozni, ezt nevezzük faktorozásnak
Pl.: 0,1 M (mol/l) KOH mérőoldat készítésénél a névleges koncentráció c_N , a pontos koncentráció $c \rightarrow c = c_N \cdot f$, ahol f : faktor.

KOH faktorozása

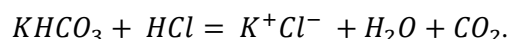


$$\text{é.p.: } n_{\text{KOH}} = n_{\text{HCl}},$$

$$V_{\text{KOH(pipetta)}} \cdot c_{\text{KOH}}^{\text{pontos}} = V_{\text{HCl(büretta)}} \cdot c_{\text{HCl(ismert)}},$$

$$c_{\text{KOH}}^{\text{pontos}} = c_{\text{KOH}}^{\text{névleges}} \cdot f.$$

Sósav mérőoldat faktorozása



A KHCO_3 pontosan bemérhető, sztöchiometrikus, stabil, (nem nedvszívó, nem bomlik), szilárd.

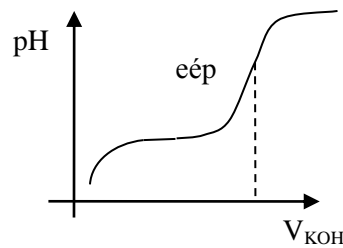
$$n_{\text{KHCO}_3} = \frac{m_{\text{KHCO}_3}}{M_{\text{KHCO}_3}} = V'_{\text{HCl}} \cdot c_{\text{HCl}}.$$

Kémiai végpontjelzés

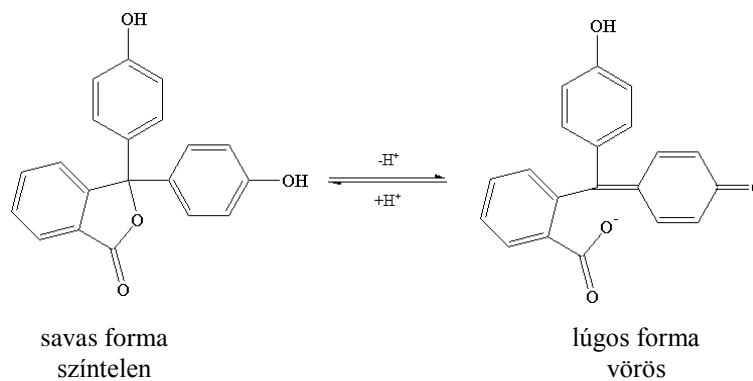
Indikátor színváltozását figyeljük, az indikátor átcsapása jelzi az egyenértékpontot.

Az indikátort aszerint kell kiválasztani, hogy a színváltozással jelzett végpont (gyakorlati fogalom), ahol befejezettek tekintjük a titrálást, közel legyen az egyenértékponthoz (elméleti).

Az egyenértékpont a titrálási görbe inflexiós pontjánál van, tehát olyan indikátort keresünk, amelynek az átsapása 8–9-es pH körül van. Ilyen a fenolftalein.



1.2.1.3. ábra. Sav-bázis meghatározás titrálási görbéje a pH a kálium-hidroxid mérőoldatfogyás függvényében



1.2.1.4. ábra. A fenolftalein szerkezeti képlete

A színváltozást a kinoidális szerkezet kialakulása okozza, amely bizonyos hullámhossztartományban elnyeli a látható fényt. A **titrálás végpontja** az átmeneti színnél van (rózsaszín).

Eredmény

Savszám: 1 g olaj/zsír szabad zsírsavtartalmának közömbösítéséhez szükséges KOH mennyisége mg-ban. Mértékegysége: mg KOH/g olaj.

Mennyiségi (kvantitatív) reakció \equiv a mérendő komponens teljesen elreagál (általában $\pm 0,1\%$ nagyságrendű lehet a hiba a klasszikus analitikában).

Például: ha a savszám 0,1, akkor ez mit jelent % m/m-ban, ha feltételezzük, hogy csak olajsav van jelen?

$$0,1 \frac{\text{mg KOH}}{\text{g olaj}} * \frac{M_{\text{olajsav}}(\frac{\text{mg}}{\text{mmol}})}{M_{\text{KOH}}(\frac{\text{mg}}{\text{mmol}})} = 0,1 \frac{282}{56,1} \cong 0,5 \frac{\text{mg zsírsav}}{\text{g olaj}} = 5 * 10^{-2} \% \frac{\text{m}}{\text{m}},$$

ha a savszám 1, akkor 0,5% m/m.

Nyers növényi olajok savszáma < 10.

Fogyasztáshoz < 1.

Keményítéshez < 0,1.

$$\text{savszám} = \frac{V_{KOH}[ml] \cdot c_{KOH} \left[\frac{mmol}{ml} \right] \cdot 56,1 \left[\frac{mg}{mmol} \right]}{m_{olaj}[g]}$$

$$\left. \begin{array}{l} V_{KOH}[ml]: KOH \text{ mérőoldatfogyás a végpontig} \\ c_{KOH} \left[\frac{mmol}{ml} \right]: KOH \text{ mérőoldat koncentrációja} \end{array} \right\} n_{KOH} = n_{zsírsav},$$

$m_{olaj}[g]$: olaj tömege.

megbízhatóság: 0,1–1 savszám esetén 0,5%.

Abszolút hiba = mérési eredmény – valódi érték
[a mért mennyiség mértékegységében van megadva]

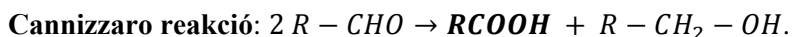
$$\text{Relatív hiba} = \frac{\text{abszolút hiba}}{\text{mért érték (v.valódi érték)}} * 100\%.$$

Zavaró hatások szabad zsírsav-savszám meghatározás esetében:

Mérendő komponens: zsírsav

Kísérő komponens: többi → nem zavar-e? → igen, az aldehidek zavarnak!

- lehet a mintában szennyezés (más sav vagy bázis),
- az eljárás során keletkező zavaró komponensek: ha zsírban van aldehyd (mert abból részben sav keletkezik, amely fogyaszt KOH mérőoldatot).



Az így keletkező savat is megtitráljuk →

ezek a zavaró komponensek úgy reagálnak, mint a mérendő anyag →
ezt a zavarást **interferenciának** nevezzük.

1.2.2. Teljes zsírsavtartalom meghatározás

Teljes zsírsavtartalom: a **szabad zsírsav és az észterben kötött zsírsavak együtt.**

Mivel az észter hidrolízis lassú, ezért nem tudjuk közvetlenül titrálni, így

1. Észterek bontása: főlős alkoholos KOH mérőoldatot vagy EtOH-t ismert mennyiségben (főlőslegben, többet adunk hozzá, mint amennyi a reakciókhoz elméletileg szükséges),
2. melegítjük (hosszabb idő) így az oldat elszappanosodik. (Bontás után az összes zsírsav só formában van.) Tehát **K-szappanok** keletkeztek (*zsírsavak só formában*) + maradt még **KOH (a főlősleg)**.
3. **Visszatitrálás** (reagens főlőslegének meghatározása titrálással, HCl-val).
4. Eredmény:

$$\text{elszappanosítási szám, szappanszám} \left[\text{mg} \frac{\text{KOH}}{\text{g}} \text{ olaj, zsír} \right] = \frac{(n_{KOH} - n_{HCl}) \cdot M_{KOH}}{m}.$$

Észterben kötött zsírsavak: észterszám = szappanszám – savszám.

1.2.3. Fe meghatározása sörben – AAS

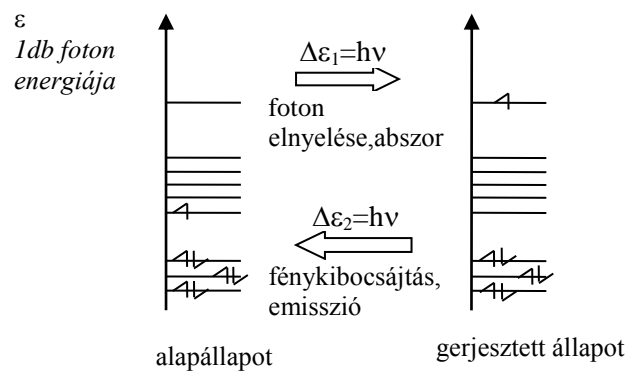
A koncentráció nagyságrendje: tized mg/l. **Műszeres módszert választunk;** ilyen koncentráció-tartományban a klasszikus analitikai módszerek közvetlenül általában nem alkalmazhatók.

A meghatározás alapja: szabad vas atomok specifikus fényelnyelése.*Módszer: atomabszorpciós spektrometria (atomic absorption spectrometry, AAS)***Az AAS elve:**

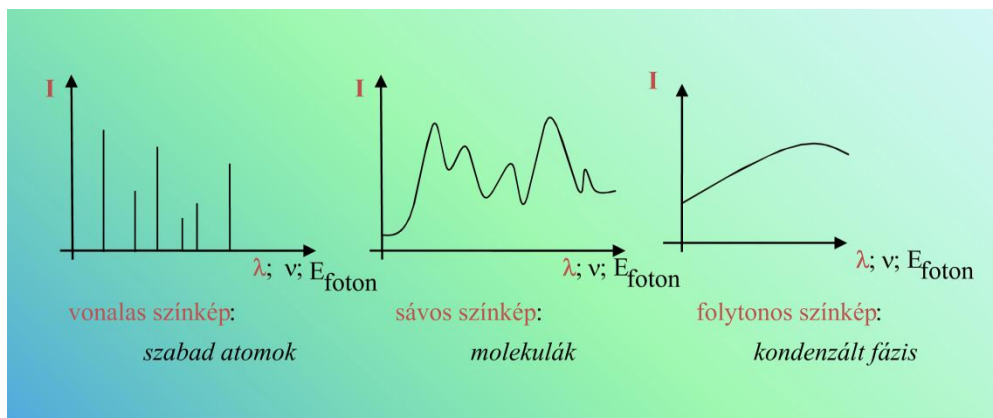
1. a mérendő elemet termikusan szabad atomokká alakítjuk,
2. ezeket az elemre specifikus hullámhosszúságú fényel világítjuk meg,
3. és a fényelnyelést mérjük.

Az atomszínképek keletkezése:

1. Alapállapot.
2. Abszorpció: gerjesztés foton elnyeléssel.
3. Gerjesztett állapotok.
4. Emiszió: átmenet kisebb energiájú állapotba foton kibocsátással.



1.2.3.1. ábra. Az atomszínképek keletkezése



1.2.3.2. ábra. Színkép: intenzitás a hullámhossz (vagy a frekvencia vagy az energia) függvényében. A színkép szabad atomok esetében vonalas (a molekulaszínképek általában sávós szerkezetűek)

Szabad atomok: (nincs kölcsönhatásban más részecskével)

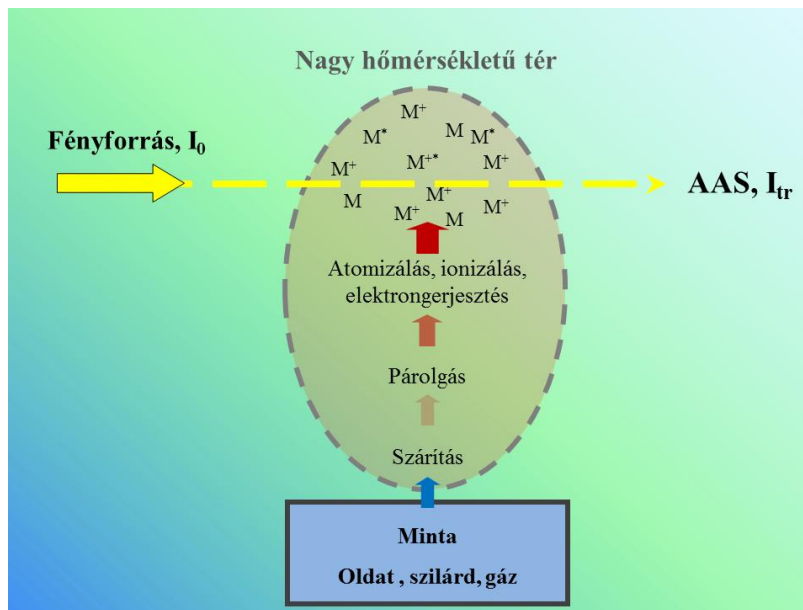
A mintában, mely vizes oldat, a Fe +2 és +3 oxidációs fokkal, komplexekben kötött ionok formájában van. **Szabad atomok:** nagy hőmérsékletű gázban lehetnek. A jelen példában a szabad atomokat lángban állítjuk elő, vagyis a **láng az atomforrás**. (Más atomforrások is léteznek.)

Milyen fő folyamatokon kell keresztülmennie a mintának?

1. A mintaoldat cseppekre bontása (aeroszol képzés) porlasztással.

Atomforrásban (nagy hőmérsékletű tér, pl.: láng):

2. Az **oldószer** (víz) **elpárolgása**.
3. Az oldott anyagok elpárolgása és **hőbomlása**.
4. Atomizáció: a Fe vegyületeinek bomlása **szabad Fe atomok** keletkezésével.
5. Fényelnyelés (megvilágítás külső fényforrással).



1.2.3.3. ábra. Az atomforrásban végbemenő folyamatok

A mennyiségi meghatározás alapja:

- Transzmittancia: $\frac{I_T}{I_0} = T$.
- Abszorpció: $\frac{I_0 - I_T}{I_0} = A_T$.

I_0 – a beeső fény intenzitása az adott hullámhosszon.

I_T – az atomforráson átmert (transzmittált) fény intenzitása az adott hullámhosszon.

A – abszorbanca: arányos az atomok koncentrációjával.

$$\lg \frac{I_0}{I_T} = -\lg T = A,$$

$$A = k \cdot c_{Fe, láng}.$$

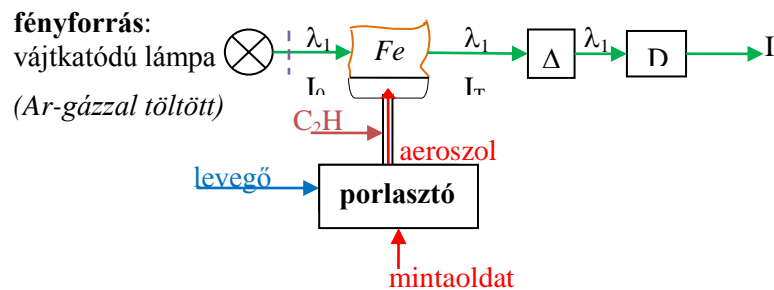
A meghatározásra szolgáló kölcsönhatásban (a fényabszorpcióban) **a mérendő komponensnek nem a teljes mennyisége vesz részt!** Az egész folyamatot úgy kell megvalósítani, hogy a mért abszorbanca ne csak a lángban lévő Fe-atomok, hanem a **mintaoldatban lévő vas koncentrációjával is arányos legyen!**

$$A = k' \cdot c_{Fe, oldat}.$$

Ehhez az szükséges, hogy (egy mérésorozaton belül) a teljes Fe mennyiségnek ugyanakkora hányada vegyen részt a folyamatban.

A spektrométer fő részei:

- **Fényforrás** (vájtkatódú lámpa), melyben a meghatározandó elem atomjai emittálják a vonalas spektrumot. Ebből az elemzéshez egyetlen vonalat (egy bizonyos hullámhosszú fényt) használunk. Mérés Fe esetében 248,3 nm hullámhosszú (UV tartományban) fényforrással. (Megjegyzés: más, fényelnyelésen alapuló spektroszkópiai eljárásokban folytonos színekű fényforrásokat használnak, és a kívánt hullámhosszat monokromátorral választják ki!)
- **Porlasztó:** A mintaoldatot általában az égést tápláló gázzal porlasztjuk. Ezt a nagy cseppek leválasztása és az aeroszoknak az éghető gázzal való keverése követi.
- **Atomforrás:** esetünkben acetilén – levegőláng (kb. 2500 K).
- **Monokromátor:** az atomforráson átbocsátott fényből az elemspecifikus hullámhossz környezetét engedí át.
- **Detektor:** a fényintenzitással arányos jelet ad.

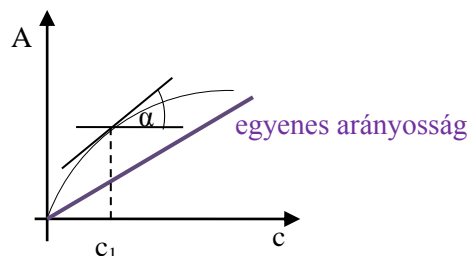
A mérési elrendezés:

1.2.3.4. ábra. Atomabszorpciós mérés vázlatja

A kísérő komponensek zavaró hatása

- A sörök különböző szén-dioxid tartalma: a porlasztás hatásosságát befolyásolja (segíti). Erős kikeveréssel a szén-dioxid fölöslege eltávolítható.
- A különböző sörök viszkozitása eltér a különböző oldott anyag (extrakt) tartalom miatt: Ez szintén a porlasztás hatásosságát – és ezen keresztül a mérés érzékenységét – befolyásolja.

Mátrixhatás: ha a zavaró komponens nem ad a mérendőhöz hasonló jelet, de megváltoztatja az érzékenységet.



1.2.3.5. ábra. Érzékenység grafikus meghatározása

$$\operatorname{tg} \alpha = s = \frac{d(\text{jel})}{d(\text{konc})}$$

s: érzékenység (sensitivity).

Most a jel az abszorbancia (A), a koncentráció = $c_{\text{Fe, oldat}}$.

Érzékenység meghatározása az adott mintában: (standard) addíciós módszerrel

Az érzékenységet magában a mintaoldatban határozzuk meg, **addíciós módszerrel**. (c_1 -et keressük, A_1 és A_2 pedig mérési eredmények).

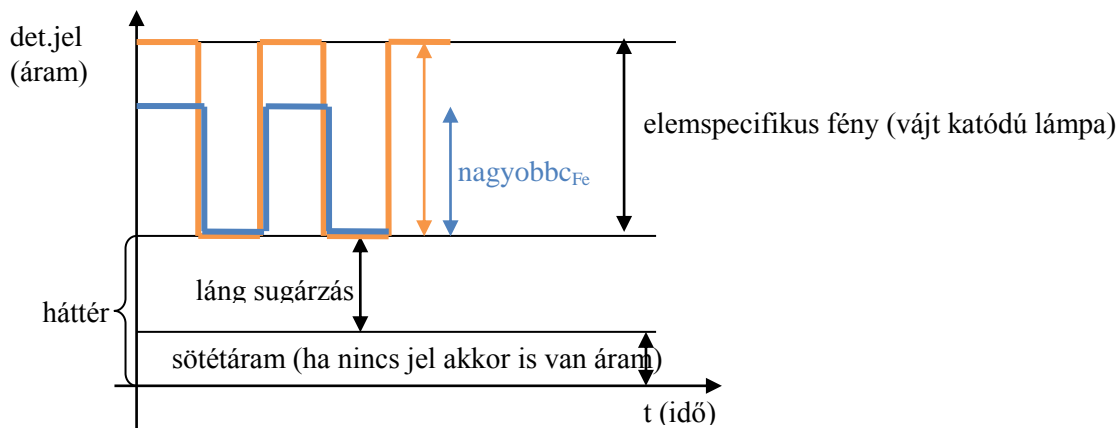
- mérés:** 25,0 ml mintaoldat,
tiszta vízzel 50,0 ml-re kiegészítve

$$A_1 = s \cdot c_1.$$

- mérés:** 25,0 ml mintaoldat + 0,5 ml 10 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációjú standard oldat,
tiszta vízzel 50,0 ml-re kiegészítve

$$A_2 = s \frac{c_1 \cdot 25 \text{ ml} + 10 \mu\text{g/ml} \cdot 0,5 \text{ ml}}{50 \text{ ml}}.$$

A meghatározás megbízhatósága: 1–2 relatív %.

A hasznos jel elkülönítése: moduláció (a megvilágítás ki- és bekapcsolása)

1.2.3.6. ábra. Moduláció okozta periódikus jelváltozás

A hasznos jel a váltóáramú komponens.

1.2.4. Cement alumíniumtartalmának meghatározása

Az alumíniumtartalom nagyságrendje: néhány % m/m (tömegszázalék).

A portlandcement főleg szilikátokból áll, de összetételét oxidokban kifejezve szokták megadni.

Tipikus összetétel: CaO: 65%; SiO₂: 25%; Fe₂O₃: 3%; Al₂O₃: 3%; MgO: 1%; Na₂O, K₂O...

Meghatározás: AAS mérés 309,3 nm-en

Problémák és megoldásuk:

- Vízben oldhatatlan** a vizsgálati anyag.

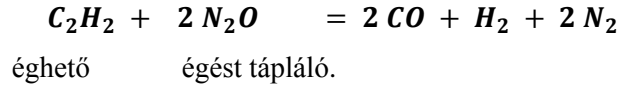
Mintaelőkészítés:

- feltárás: **lúgos ömlesztés:** 0,5 g cement + 2 g NaOH,
- az ömledék (oldható szilikátok, alumínátok... stb.) lehűtése,

- utána vizes oldás,
- savanyítás, hígítás.

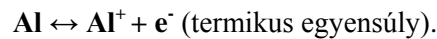
2. Hőálló szilikát-komplexek és alumínium-oxid képződése:

Acetilén – dinitrogén-oxid: **redukáló láng** (kb. 3000 K)



3. Ionizáció

A lángban az Al-atomok eltérő arányban ionizálódnak, ha a könnyen ionizálódó elemek (alkáli és földalkáli fémek) koncentrációja és emiatt az elektronkoncentráció mintáról mintára különbözik. Ez **mátrixhatás**: a zavaró komponensek nem adnak jelet, de megváltoztatják a mérés érzékenységét.



A lángban sok a még könnyebben ionizálódó Na →

tehát sok e⁻, az Al felé tolódik az egyensúly,

mátrixhatás belekalkulálható, ha c_{Na} állandó.

4. A kalibrációs oldatsorozat

A kalibrációs oldatsorozatot a cement összetételének és a feltáráshoz használt anyagnak megfelelő mennyiségű Ca-, Mg-, Fe-, Si- és Na-tartalommal készítik el. (Al³⁺ koncentrációját változtatjuk.)

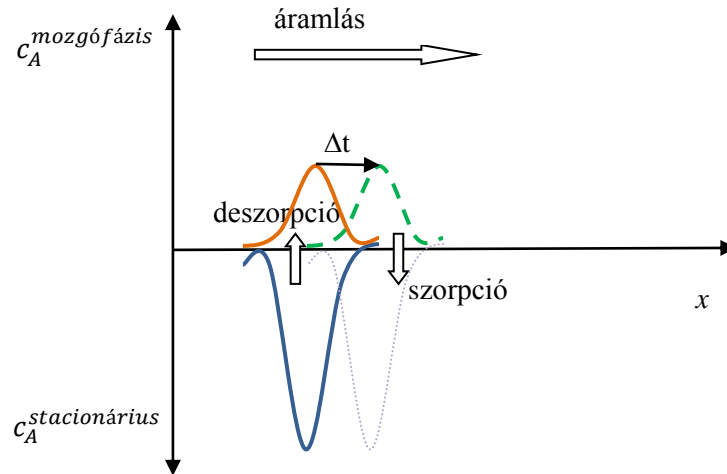
Megjegyzés: tágabb értelemben a zavaró komponensek összes hatását – tehát az itt említett mátrixhatást és az interferenciát (ld. aldehidek jelenléte szabad zsírsav meghatározásánál) – közösen is szokták mátrixhatásnak nevezni.

1.2.5. *Véralkohol gázkromatográfiás mérése*

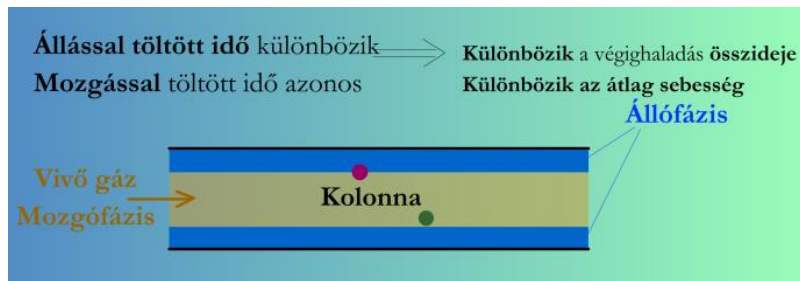
Az analitikai kémia elválasztási módszereit elsősorban összetett, **egymáshoz hasonló tulajdonságú komponenseket tartalmazó minták elemzéséhez használják**; a legelterjedtebbek: **kromatográfiás módszerek**.

A kromatográfiás elválasztás alapja:

- A komponensek megoszlanak az állófázis és a mozgófázis között;
- míg a mozgófázis áthalad a rendszeren, a komponensek sokszor átlépnek a két fázis között.
- Az erősebben kötődő komponens több időt tölt az állófázisban, ezért lassabban halad át.



1.2.5.1. ábra. Dinamikus koncentráció egyensúly
(x : távolság a kolonnán az injektálási ponttól Δt : kis idő elteltével)



1.2.5.2. ábra. Gázkromatográfias elválasztás

A kromatográfias eljárások felosztása:

- az állófázis elrendezése szerint:
 - oszlop (kolonna) = cső:
 - töltetes (por),
 - kapilláris (nyitott cső) kolonna - falán van az állófázis,
 - planáris (sík):
 - VRK = TLC (vékonyréteg-kromatográfia, thin layer chromatography)
- A mozgófázis halmazállapota szerint:
 - gázkromatográfia (GC) és,
 - folyadékkromatográfia (LC),
 - szuperkritikus fluidum (SFC).

Elúciós kromatográfia: a mozgófázis (eluens) anyaga az állófázison a mérendő komponenseknél sokkal gyengébben kötődik meg. A mintát az eluensáramba impulzusszerűen visszük be.

Kromatográfias csúcsok két fő jellemzője: retenciós idő (minőség), csúcsterület (mennyiség).

Vizsgálati anyag

Vérminta – nagyon sok összetevőjű, közvetlenül nem kromatografálható.

Megoldás

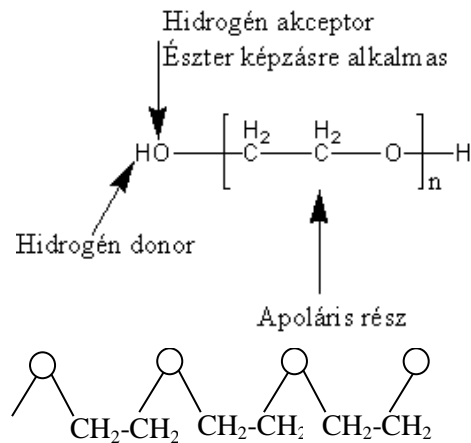
Gőztéranalízis (HS-GC: Headspace Gas Chromatography).

A termosztált plazma feletti térből veszünk mintát; az etanol parciális nyomása összefügg az oldatbeli koncentrációjával.

(Tartósított)vér $\xrightarrow{\text{sejtes elemek eltávolítása}}$ vérplazma \rightarrow illékony gőzei \rightarrow HS – GC.

A kromatográfás mérés körülményei

Állófázis: az állófázis az elválasztandó komponensekhez hasonló legyen, azaz legyen poláris.

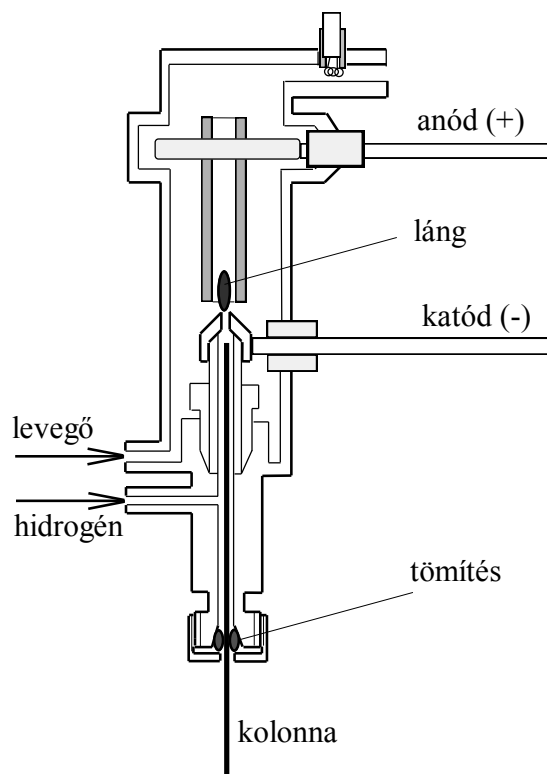


1.2.5.3. ábra. Poli(etilénlikol) – PEG szerkezeti képlete

Eluens: hidrogéngáz.

Detektálás: lángionizációs detektor: H₂-FID (Flame Ionisation Detector):

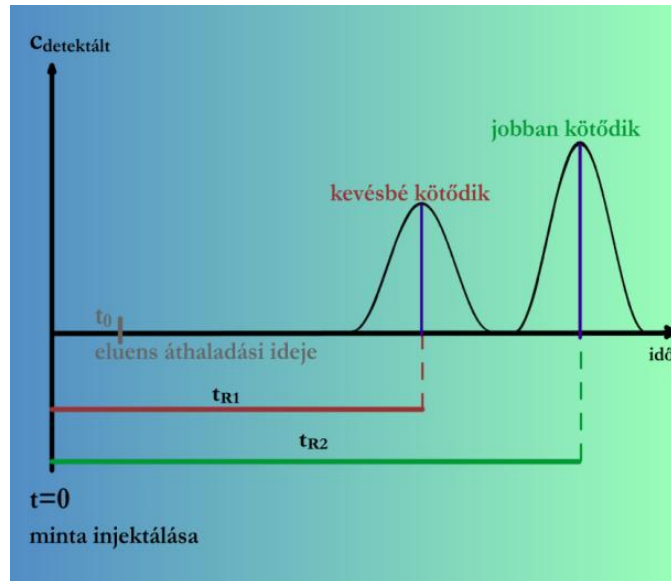
a hidrogén-levegő lángban a szerves vegyületek égése közben pozitív ionok és elektronok is keletkeznek, az áram növekedését mérjük.



1.2.5.4. ábra. Az FID-detektor vázlatja

Eredmény: kromatogram

Kromatogram: regisztrált detektorjel az idő függvényében.



1.2.5.5. ábra. Detektorjel az idő függvényében.

A jel általában egyenesen arányos a detektált anyag pillanatnyi koncentrációjával.
Az ábrán bemutatott kromatogram: regisztrált koncentráció az idő függvényében

Mennyiségi értékelés: belső standard módszerrel

Standard: **izo-propanol** (tulajdonságai hasonlóak az etanoléhoz, de a vérben nem fordul elő).

1. Előmérés: ismert: EtOH, i-PrOH

$$A_{Et_1} = s_{Et_1} \cdot c_{Et_1},$$

$$A_{Pr_1} = s_{Pr_1} \cdot c_{Pr_1}.$$

Feltételezés: **relatív érzékenység** állandó:

$$f = \frac{s_{Et_1}}{s_{Pr_1}} = \frac{s_{Et_2}}{s_{Pr_2}}.$$

2. Mérés: ismert i-PrOH, ismeretlen: EtOH

$$A_{Et_2} = s_{Et_2} \cdot c_{Et_2},$$

$$A_{Pr_2} = s_{Pr_2} \cdot c_{Pr_2}.$$

1.2.6. A motorbenzin szénhidrogén összetevőinek mérése gázkromatográfiával

- 30–40 komponens szelektív mérésére van szükség.
- Elválasztás **apoláris állófázison: poli(dimetilsziloxán)**.
- Mennyiségi értékelés **belső standard módszerrel**; a különböző vegyülettípusokhoz (alkánok, alkének, telített ciklikus, illetve aromás szénhidrogének) **4 féle standard anyagot** teszünk bele, típusonként egyet.
- Fontos, hogy a standard a mérendő komponenshez hasonló legyen, ekkor várható, hogy a zavaró hatások a két anyagot azonosan érintik.

1.3. A MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁS ÁLTALÁNOS MÓDSZEREI

A mért válaszjel és a koncentráció/mennyiség összefüggésének leírása.

1. **Kalibráció:** az összefüggés (elemző görbe) kimérése ismert összetételű mintasorozattal.
2. **Addíció (standard addíció):** ha a válaszjel a koncentrációval (mennyiséggel) – vagy annak valamilyen ismert függvényével – egyenesen arányos, az összefüggés a mérendő komponens ismert mennyiségének hozzáadásával határozható meg.
3. **Belső standard:** $\text{jel} = \text{érzékenység} \cdot \text{koncentráció}$ (vagy mennyiség) egyenes arányosság esetén az érzékenység meghatározása egy másik (az anyagban ismert mennyiségben jelenlévő vagy ismert mennyiségben bevitt) komponensre vonatkozó érzékenység alapján. Feltételezés: a különböző mintákban a két komponensre vonatkozó érzékenység hányadosa (a relatív érzékenység) állandó. Ehhez az szükséges, hogy a belső standard fizikai és kémiai tulajdonságai a mérendő alkotóéhoz hasonlóak legyenek.

1.4. AZ ELEMZÉSEK MINŐSÉGBIZTOSÍTÁSÁNAK ALAPJAI

A mérési eredmény a megismerni kívánt mennyiséget (pl. a keresett koncentrációt) csak több-kevésbé jól közelítheti. Épp ezért van szükség az analitikai mérések megbízhatóságának leírására, a mérési eredményt befolyásoló tényezők, folyamatok áttekintésére.

Az analitikai mérési eredményt a **valódi érték** és a **hiba** összegének tekintjük, az utóbbit pedig két taggal, a **rendszeres** és a **véletlenszerű hibával** írjuk le.

$$\begin{aligned}\text{Mérési eredmény} &= \text{valódi érték} + \text{hiba}, \\ &= \text{valódi érték} + \text{rendszeres hiba} + \text{véletlenszerű hiba}.\end{aligned}$$

(Szigorúan véve a valódi értéket sosem ismerhetjük meg tökéletesen pontosan. Egy kalibrációs sorozat mintáit általában a kérdéses komponens pontos bemérésével állítjuk elő. A bemérés hibája lehet több nagyságrenddel kisebb, mint a kalibrálandó módszeré, de nem nulla.)

A továbbiakban feltételezzük, hogy a mérés jellemzői időben nem változnak. Az analitikai eljárásokat úgy kell kidolgozni és használni, hogy egy kísérlet sorozaton belül ez a feltétel fennálljon. A hosszabb idő alatt bekövetkező változásokat új kalibrációval, stb. lehet kezelni.

Rendszeres, szisztematikus hibák

E hibák létrejöttét mint determinisztikus folyamatot tekintjük, vagyis feltételezzük, hogy a hibát bizonyos paraméterek egyértelműen meghatározzák. A hibát függvényekkel írjuk le. A rendszeres hiba vizsgálata

- a mért értékkel való összefüggése szempontjából: additív, arányos és nemlineáris hibakomponens,
- a kísérő komponensek koncentrációjával/mennyiségével való összefüggés szempontjából: interferencia és mátrixhatás,
- más tényezőtől (pl. hőmérséklet, az előző értéktől) függő hiba.

Véletlenszerű hibák

E hibák keletkezését sztochasztikus (valószínűségi) folyamatként kezeljük. A leírásban a hiba (és emiatt maga a mérési eredmény is) valószínűségi változó, amely egyértelműen nem jelezhető előre, csak az adható meg, hogy egy bizonyos (kiválasztott) tartományba mekkora valószínűséggel esik. A hiba matematikai leírásában a valószínűségszámítás és a matematikai statisztika eszközeit alkalmazzuk.

A véletlenszerű hiba összetevői:

- véletlen (random) hiba: várható értéke zérus, szórása véges,
- kiugró érték,
- rendkívüli hiba.

A rendkívüli hibákat és a kiugró értékeket elsősorban a kísérlet körülményeinek kézben tartásával kell megszüntetni. Ha kiugró értékek mégis előfordulnak, azok elfogadhatósági vizsgálattal szűrhetők ki. *A véletlen hiba (bár a módszer finomításával, a kísérleti paraméterek jobb kézben tartásával csökkenthető) nem szüntethető meg*, de statisztikailag általában jól leírható. A közvetlenül mért mennyiség véletlen hibája sokszor normális eloszlású.

Megjegyzés: az, hogy a hiba egy összetevőjét rendszeresnek vagy véletlenszerűnek tekintjük, múlhat a vizsgálat mélységén is; a döntés sokszor önkényes.

1.4.1. Az analitikai módszerek teljesítményjellemezői

Szelektivitás, specifikus jelleg: a módszer képes megkülönböztetni a komponenseket egymástól, illetve csak a kívánt komponenszt méri.

Érzékenység: d (válaszjel)/ d (koncentráció vagy mennyiség).

Tartomány, lineáris tartomány (ld. még: meghatározási határ).

Helyesség (accuracy, trueness) torzítatlanság: a rendszeres hiba kicsiny; a mérési eredmény várható értéke közel esik a valódi (elfogadott) értékhez.

Visszanyerés (recovery): a rendszeres hiba jellemzője, melyet bonyolult – sok komponensből álló és/vagy változékonny (bomlékony) – minták elemzése esetén használunk. A visszanyerés az adott módszerrel mért koncentráció (anyagmennyiség) vagy koncentrációnövekmény és a valóságos koncentráció (-mennyiség), illetve koncentrációnövekmény aránya. A visszanyerést általában százalékosan adják meg.

A visszanyerés meghatározásának módjai:

- mátrix referencia anyagok: tanúsított standardok, CRM (certified reference material) vagy laboratóriumi standardok mérése,
- mintaerősítés: a mérendő komponens koncentrációjának ismert mértékű növelése (spiking, fortification),
- kísérő standard hozzáadása (surrogate standard): izotópjelzett molekula; hasonló, de nem azonos vegyület.

Precizitás (precision): a mérés precíz, ha a véletlenszerű hibák kicsik. A precizitást a szórással írhatjuk le.

- **Ismételhetőség:** azonos módszer, laboratórium, műszer és kezelő.
- **Reprodukálhatóság:** azonos módszer, különböző laboratórium, műszer és kezelő.

Megjegyzés: a **pontoság** kifejezést a magyar szaknyelv nem egyértelműen használja; van, ahol a torzítatlanságot, más területeken a precizitást értik rajta.

Megbízhatóság: helyesség és precizitás (együtt).

Kimutatási határ (detection limit, DL, limit of detection, LOD): a mért alkotónak az a legkisebb koncentrációja (vagy mennyisége), amely a vak mintától megbízhatóan megkülönböztethető.

Megállapodás szerint a kimutatási határ az a koncentráció (mennyiség), amelyre nézve a válaszjel várható értéke = a vak minta válaszjelenek várható értéke + a válaszjel (a vak mintához tartozó) szórásának háromszorosa.

Meghatározási határ (a mennyiségi mérés alsó határa, quantitation limit, QL, LOQ): az a legkisebb koncentráció (vagy mennyiség), amely még elfogadható megbízhatósággal határozható meg. Ennek értékét is a vak minta válaszjele és szórása segítségével lehet megadni; a meghatározási határ a módszer jellemzőin kívül attól is függ, hogy az adott feladatban mekkora hiba engedhető meg. Általában az a koncentráció (-mennyiség), amelyre nézve a válaszjel várható értéke = a vak minta válaszjelenek várható értéke + a válaszjel (a vak mintához tartozó) szórásának tízszerese.

Robusztusság, állékonyság, zavartűrés (ruggedness, robustness): a módszer ellenálló képessége a kísérleti paraméterek és körülmények kisebb változásaival szemben. A módszer robusztus, ha a paraméterek kis változása a mérési eredményt nem (vagy csak kevéssé) befolyásolja.

Validálás (megfelelőségvizsgálat): eljárás annak igazolására és dokumentálására, hogy az elemzési módszer megfelel a kívánt célnak, vagyis a módszer teljesítményjellemzői elérik a feladat megoldásához szükséges szintet.

II. KLASSZIKUS ANALITIKA

A. TITRIMETRIA

Tartalom

1. Bevezető	24
1.1. A MÉRŐOLDATOK KONCENTRÁCIÓJA	24
1.2. Titráltsági fok	25
2. Sav-bázis titrálások.....	26
2.1. Erős sav vagy erős bázis titrálása	26
2.2. Egyértékű gyenge sav vagy gyenge bázis titrálása.....	33
2.3. Többértékű sav-bázis titrálások.....	40
2.4. Sav-bázis titrálások nemvizes közegben	44
2.5. Kérdések és Számolási Feladatok	45
3. Komplexometria.....	51
3.1. Bevezető	51
3.2. Kelatometriás titrálás.....	52
3.3. Kérdések és Számolási Feladatok	58
4. Csapadékos Titrálás.....	59
4.1. Argentometria.....	59
4.2. Kérdések és Számolási Feladatok	65
5. Redoxi titrálás.....	67
5.1. Bevezető	67
5.2. Permanganometria.....	73
5.3. Jodometria	75
5.4. Bromatometria.....	78
5.5. Cerimetria.....	78
5.6. Kromatometria.....	78
5.7. Kérdések és számítási feladatok.....	79

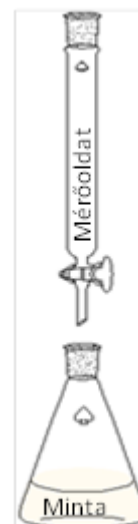
1. BEVEZETŐ

A térfogatoss mérések (titrálások) alkalmával a következtetéseket az elfogyott reagens mennyiségéből vonjuk le. A reagenst pontosan ismert koncentrációjú mérőoldat formájában, fokozatosan adjuk a minta oldatához. Olyan reakciókra van szükség, amelyek szigorúan sztöchiometrikusak, gyorsan (pillanatszerűen) egyensúlyra vezetnek és egyensúlyuk a kívánt irányba el van tolva. Ha a reagens hozzáadott kémiai mennyisége [mol] egyenértékű (ekvivalens) az analát mennyiségével, akkor beszélünk egyenértékpontról vagy ekvivalenciapontról (éép). Az analát és a reagens mólarányát a lejátszódó reakció sztöchiometriai együtthatói szabják meg.

- A kémiai folyamat (illetve az egyensúly) típusa szerint van:
 - **sav-bázis** reakción,
 - **komplekképzésen**,
 - **csapadékképzésen**,
 - **redoxi folyamatokon** alapuló titrálás.

Annak megállapítására, hogy mikor adtunk éppen elegendő mérőoldatot a mintához, végpontjelzésre van szükség. A klasszikus elemzésekben kémiai indikátorok segítségével követjük a folyamatot; az indikátorok a titrálás végpontját színváltozással jelzik. A végpont nem azonos az egyenértékpontról, csupán megközelíti azt. A titrálások végpontjelzésére műszeres módszereket is használnak, ezekre az egyes műszeres analitikai mérés technikák bemutatása során térünk ki.

A térfogatoss analízis fontosabb mérőeszközei: a buretta, a pipetta és a mérőlombik.



1.1. A MÉRŐOLDATOK KONCENTRÁCIÓJA

A mérőoldat a reagenst ismert mennyiségben tartalmazó oldat. Ezt a mintához fokozatosan, kis részletekben adjuk hozzá. A reagens vagy az oldat instabilitása miatt azonban a valóságos koncentrációt külön meg kell határozni. Ez úgy történik, hogy a mérőoldattal egy pontosan ismert összetételű és mennyiségű anyag (standardizáló alapanyag, titeranyag) oldatát titráljuk meg; ezt a hatóérték megállapításának, faktorozásnak nevezik.

- A mérőoldat **névleges koncentrációja**: az oldat készítése során megcélzott koncentráció (adott).
- A mérőoldat **pontos (valóságos) koncentrációja**: az oldat tényleges koncentrációja (elemzéshez, számoláshoz ezt használjuk).
- A mérőoldat **faktora**: a pontos és a névleges koncentráció hányadosa (faktorozás során határozzuk meg).

$$f = \frac{c_{\text{pontos}}}{c_{\text{névleges}}}$$

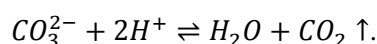
Példa

Sósav mérőoldat névleges koncentrációja 0,1 M. A hatóérték megállapításához bemérünk 122,0 mg vízmentes nátrium-karbonátot, és feloldjuk vízben. A nátrium-karbonát oldat megtitrálására 22,15 ml sósav mérőoldat fogy. Számítsa ki a mérőoldat pontos koncentrációját és faktorát!

$$C: 12,0; Na: 23,0; O: 16,0.$$

Megoldás:

a titrálás ionegyenlete: (A Na^+ és a Cl^- nem vesznek részt a titrálási reakcióban).



A nátrium-karbonát moláris tömege:

$$M_{Na_2CO_3} = 2 * 23 + 12 + 3 * 16 = 106,0 \frac{mg}{mmol}$$

A nátrium-karbonát kémiai mennyisége:

$$\begin{aligned} 1 \text{ mmol} &\rightarrow 106,0 \text{ mg} \\ n_{CO_3^{2-}} &\leftarrow 122,0 \text{ mg} \Rightarrow n_{CO_3^{2-}} = \frac{122,0 \text{ mg}}{106,0 \text{ mg}} * 1 \text{ mmol} = 1,151 \text{ mmol} \end{aligned}$$

Egységnyi karbonátionra kétszer annyi sósav fogy a titrálás során:

$$1 : 2 \Rightarrow n_{CO_3^{2-}} : n_{H^+} \Rightarrow n_{H^+} = \frac{n_{CO_3^{2-}}}{1} * 2 = 2,302 \text{ mmol}$$

A mérőoldat pontos koncentrációja:

$$c_{HCl} = \frac{2,302 \text{ mmol}}{22,15 \text{ ml}} = 0,1039 \text{ M}$$

A mérőoldat faktora:

$$f_{HCl} = \frac{c_{pontos}}{c_{névleges}} = \frac{0,1039 \text{ M}}{0,1 \text{ M}} = 1,039$$

1.2. TITRÁLTSÁGI FOK

Hányadosként vagy százalékban megadva kifejezi, hogy hol tart a titrálás folyamata

$$\alpha_t = \frac{\text{a hozzáadott reagens mennyisége}}{\text{a mérendővel egyenértékű reagens mennyisége}}$$

- Alutitráltság: $\alpha_t < 100\%$: kevesebb a hozzáadott reagens, mint a mérendő anyag kezdeti mennyisége.
- Éép: $\alpha_t = 100\%$: stöchiometriailag azonos mennyiségű a hozzáadott reagen és a mérendő kezdeti mennyisége.
- Túlititráltság: $\alpha_t > 100\%$: több a hozzáadott reagens, mint a mérendő kezdeti mennyisége.

Példa

Ha a sztöchiometriai együtthatók aránya 1:1,

a mérendő mennyisége: $0,1 \text{ M} * 0,20 \text{ ml} = 0,02 \text{ mmol}$,

és a reagensből $0,002 \text{ mmol}$ -t adtunk hozzá, akkor $\alpha_t = \frac{0,002 \text{ mmol}}{0,02 \text{ mmol}} = 0,1 = 10\%$.

2. SAV-BÁZIS TITRÁLÁSOK

A közeg: többnyire **vizes oldatokkal** dolgozunk.

A mérőoldat: mindig **erős sav** vagy **erős bázis**.

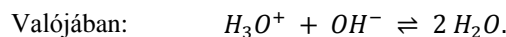
Ha a mérőoldat az titrálendő oldatnál lényegesen töményebb, (vagyis kis térfogattal nagy mennyiségű reagenst jutatunk a lombikba,) akkor a reakcióelegy hígulását elhanyagolhatjuk.

Titrálendő	Mérőoldat
sav	erős bázis: pl.: $NaOH$, KOH
bázis	erős sav: pl.: HCl , H_2SO_4 , $HClO_4$ (perklórsav)

1.4.1. táblázat. A sav-bázis titrálások során használt mérőoldatok

2.1. ERŐS SAV VAGY ERŐS BÁZIS TITRÁLÁSA

A mérendő és a mérőoldat is erős sav vagy erős bázis, amelyek (közelítőleg) teljesen disszociálnak. Tehát csak az alábbi reakcióval kell számolnunk.



Az egyensúlyi összefüggést a **víz ionszorzata** mutatja meg:

$$K_v = [H^+] * [OH^-] = \text{állandó (függ a hőmérséklettől),}$$

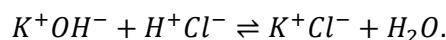
$$\text{szobahőmérsékleten jó közelítéssel } K_v = 10^{-14} M^2.$$

2.1.1. Kálium-hidroxid titrálása sósav mérőoldattal

Cél: a KOH koncentrációjának meghatározása fokozatosan csepegtetett HCl segítségével

- titrálendő (analát): KOH ,
- mérőoldat: HCl .

Lejátszódó reakció:



Kiinduláskor a pH:

mikor még nem adtunk hozzá sósavat, a kálium-hidroxidból származó OH^- a meghatározó, mivel az oldószer (a víz) disszociációja elhanyagolható.

$$\alpha_t = 0\%, \quad [OH^-] \cong c_{KOH}, \quad pl: c_{KOH} = 10^{-2}M \Rightarrow pH = 12.$$

Egyenértékpontban a pH:

az eép-ban a hozzáadott H^+ kémiai mennyisége azonos a kiinduláskori OH^- mennyiségével. Azt is mondhatjuk, hogy a reagens elfogyasztotta az erős bázis hidroxidionját, és csak a víz öndisszociációjából származó hidrogén és hidroxidionok vannak jelen. Így erős sav és erős bázis reakciója esetén az eép-ban a pH mindig 7.

$$\alpha_t = 100\%,$$

$$[H^+] = [OH^-],$$

$$K_v = [H^+]^2 = 10^{-14} M^2,$$

$$[H^+] = 10^{-7} M,$$

$$pH = 7.$$

2.1.2. Logaritmikus egyensúlyi diagram

Az egyensúlyi koncentrációk alakulását szemlélteti. A vízszintes tengelyen a pH, a függőleges tengelyen a reaktánsok koncentrációjának logaritmus szerepel.

- Sav esetén a kezdeti $pH < 7 \Rightarrow$ a diagram balról jobbra olvasva követi a folyamatot.
- Bázis esetén a kezdeti $pH > 7 \Rightarrow$ a folyamat jobbról balra követhető végig.

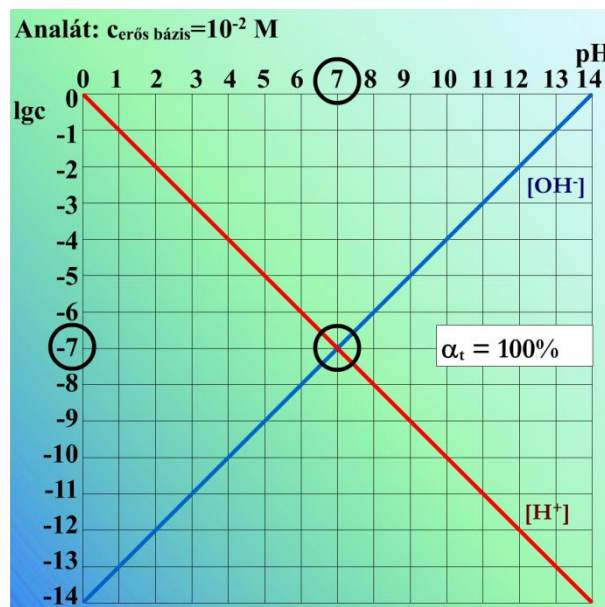
A víz ionszorzból következik, hogy minden pillanatban a

$$lg[H^+] + lg[OH^-] = -14,$$

$$pH + pOH = 14$$

egyenlőségnek fenn kell állnia. Ezt a függőleges tengelyen leolvastva ellenőrizhetjük.

Kiinduláskor: ha $lg[OH^-] = -2$ akkor $lg[H^+] = -12$.



2.1.2.1. ábra. Logaritmikus egyensúlyi diagram, ha a mérendő erős bázis 0,01 M-os

A fenti animációban az OH^- -ionok egyensúlyi koncentrációit ábrázolja a kék egyenes, ahol adott pH-hoz leolvasható, hogy mennyi az OH^- -ionok koncentrációja az oldatba (y-tengely), illetve fordítva adott OH^- -koncentráció mekkora pH-t jelent (x-tengely). Ugyanez igaz a H^+ -ionok egyensúlyi leírására is (piros egyenes). Ezt fontos alaposan tanulmányozni, hogy a későbbi összetettebb logaritmikus egyensúlyi diagramok értelmezése ne jelentsen akkora gondot.

2.1.3. Titrálási görbe

A folyamat másik nyomon követési módja a titrálási görbe. Általánosságban: a titrálási görbéken a mintához hozzáadott mérőoldat térfogatát vagy a titrálás fokát vesszük fel az abszcisszán, az ordinátán pedig valamelyik reaktáns koncentrációját vagy egy azzal összefüggő mennyiséget jelenítünk meg. A titráltság foka (α_t) a már felhasznált reagensmennyiség, illetve mérőoldat-térfogat és a meghatá-

rozandó komponenssel egyenértékű mennyiség, illetve térfogat hányadosa, arány formájában vagy sosan kifejezve. Az egyenértékpontban a titráltság 100%-os.

Jelen esetben a vízszintes tengelyen a titráltsági fok szerepel, a függőleges tengelyen a pH.

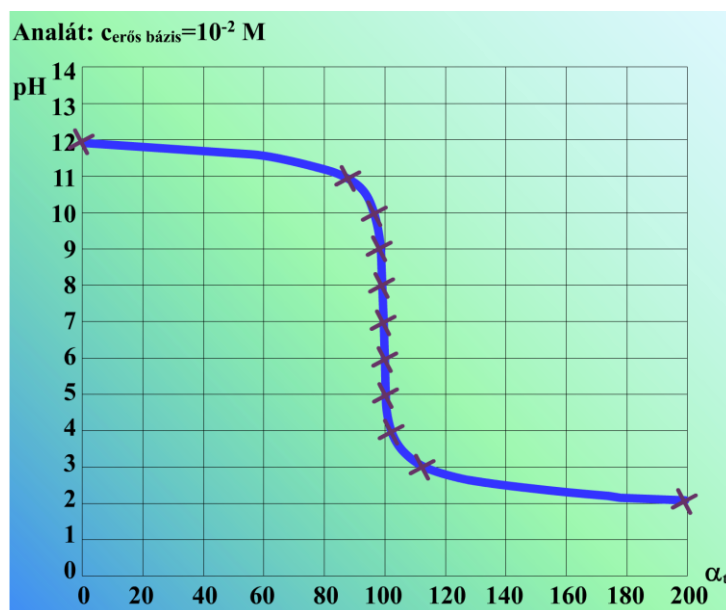
Például: ha az analát olyan erős bázis, melynek a koncentrációja $0,001\text{ M}$, akkor a következő táblázat alapján vehetjük fel a görbét.

	x-tengely		y-tengely
Kiindulás	$\alpha_t = 0\%$	$c_0 = 10^{-3}\text{M}$	pH = 11
Alutitráltság	$\alpha_t = 90\%$	$[\text{OH}^-]_{\text{maradt}} = 10^{-3}\text{M} * (1 - 0,9) = 10^{-4}\text{M}$	pH = 10
	$\alpha_t = 99\%$	$[\text{OH}^-]_{\text{maradt}} = 10^{-3}\text{M} * (1 - 0,99) = 10^{-5}\text{M}$	pH = 9
	$\alpha_t = 99,9\%$	$[\text{OH}^-]_{\text{maradt}} = 10^{-3}\text{M} * (1 - 0,999) = 10^{-6}\text{M}$	pH = 8
éép	$\alpha_t = 100\%$	$[\text{OH}^-] = [\text{H}^+] = 10^{-7}\text{M}$	pH = 7
Tútitráltság	$\alpha_t = 100,1\%$	$[\text{H}^+]_{\text{felesleg}} = 10^{-3}\text{M} * (1,001 - 1) = 10^{-6}\text{M}$	pH = 6
	$\alpha_t = 101\%$	$[\text{H}^+]_{\text{felesleg}} = 10^{-3}\text{M} * (1,01 - 1) = 10^{-5}\text{M}$	pH = 5
	$\alpha_t = 110\%$	$[\text{H}^+]_{\text{felesleg}} = 10^{-3}\text{M} * (1,1 - 1) = 10^{-4}\text{M}$	pH = 4
	$\alpha_t = 200\%$	$[\text{H}^+]_{\text{felesleg}} = 10^{-3}\text{M} * (2 - 1) = 10^{-3}\text{M}$	pH = 3

2.1.3.1. táblázat. A titrálási görbe pontjai
ha az analát erős bázis, melynek kezdeti koncentrációja 10^{-3} M

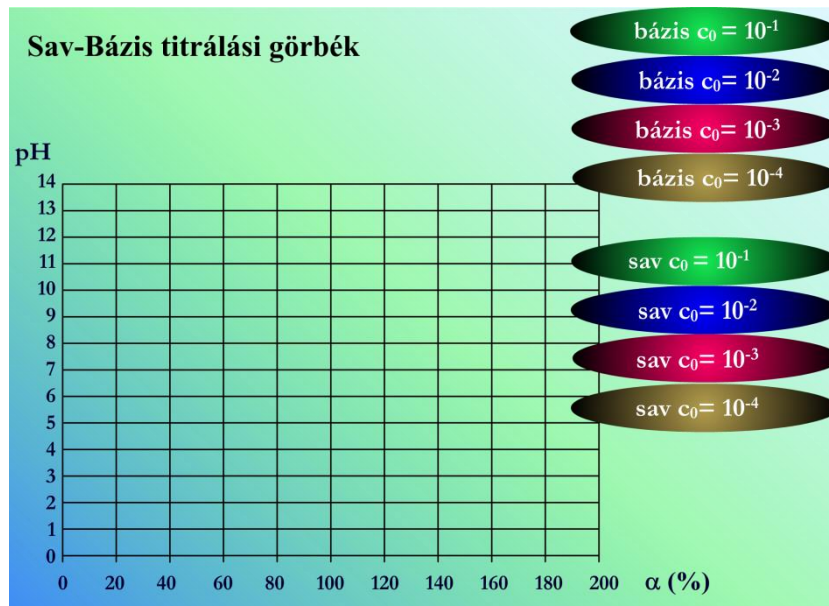
Megjegyzések:

- Alutitráltság esetén még marad $[\text{OH}^-]$.
- Tútitráltság esetén a $[\text{H}^+]$ kerül feleslegbe.
- A titráltsági fokot mindig a mérendő koncentrációhoz képest adjuk meg (tútitráltság esetén is).



2.1.3.1. ábra. Titrálási görbe,
ha a mérendő erős bázis $0,01\text{ M}$ -os

Az azonos koncentrációjú sav és bázis görbéi egymás tükörképei. A mérendő koncentráció csökkenésével a meredek szakasz egyre csökken, ami növeli a meghatározás bizonytalanságát. Nagyon kis koncentrációkat titrálással nem is tudunk meghatározni.



2.1.3.2. ábra. Titrálási görbe változása különböző koncentrációjú erős sav, illetve erős bázis titrálása esetén

2.1.4. Az indikátor megválasztása

$$\text{Relatív hiba} = \frac{\text{mért koncentráció} - \text{valóságos koncentráció}}{\text{valóságos koncentráció}}$$

Az egyenértékpont előtt (alutitráltság) az oldatban még titrálatlan H^+ -ionok vannak, a hiba negatív. A számlálóban felírt különbség abszolút értéke közelítőleg egyenlő a végpontban még titrálatlan hidrogénionok koncentrációjával. Túltitráltság esetén a hiba pozitív előjelű, nagyságát a hidroxidionok koncentrációjával jellemezzük.

$$\text{Relatív hiba} = \frac{[H^+]_{\text{végpont}}}{c_0} \text{ vagy } \frac{[OH^-]_{\text{végpont}}}{c_0}$$

A klasszikus analízisben a megengedhető maximális hiba általában 0,1%, ezért az indikátornak adott koncentrációk esetében az alábbi pH-tartományban kell jeleznie.

	Elfogadható koncentráció	Az elfogadható tartomány	
$c_{\text{bázis}} = 0,1 \text{ M}$	$0,1\% * c_{\text{bázis}} =$ $= 10^{-3} * 10^{-1} = 10^{-4}$	$\Rightarrow [OH^-]_{\text{véggpont}}$ $= 10^{-4} \text{ M}$	$pH = 10$
		$\Rightarrow [H^+]_{\text{véggpont}}$ $= 10^{-4} \text{ M}$	$pH = 4$
$c_{\text{bázis}} = 0,01 \text{ M}$	$0,1\% * c_{\text{bázis}} =$ $= 10^{-3} * 10^{-2} = 10^{-5}$	$\Rightarrow [OH^-]_{\text{véggpont}}$ $= 10^{-5}$	$pH = 9$
		$\Rightarrow [H^+]_{\text{véggpont}} = 10^{-5}$	$pH = 5$
$c_{\text{bázis}} = 0,001 \text{ M}$	$0,1\% * c_{\text{bázis}} =$ $= 10^{-3} * 10^{-3} = 10^{-6}$	$\Rightarrow [OH^-]_{\text{véggpont}}$ $= 10^{-6} \text{ M}$	$pH = 8$
		$\Rightarrow [H^+]_{\text{véggpont}}$ $= 10^{-6} \text{ M}$	$pH = 6$

2.1.4.1. táblázat. A mennyiségelemzés során elfogadható maximális pH-tartományok

Ha a végpont a 4 és 10 közé eső pH-tartományba esik ($c_{\text{bázis}} = 0,1 \text{ M}$), a végpont és az egyenértékpont eltéréséből adódó relatív hiba nem haladja meg a 0,1%-os határt.

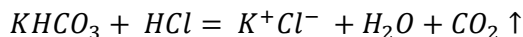
Látható, hogy hígabb oldatok mérésénél a végponttartomány szűkebb. A 2.1.3.2. ábra mutatja, hogy a közel függőleges szakaszok hossza az eép közelében a koncentráció csökkentésével, hogyan rövidül meg. Általában a mérendő legyen: $c_{\text{mérendő}} \geq 10^{-3} \text{ M}$.

2.1.5. Példa: Sósav faktorozása ($KHCO_3$ -tal) és NaOH mérése

Sósav mérőoldat faktorozása

Általában sósav mérőoldatot használunk a bázisok meghatározásához, így a pontos koncentrációjának meghatározása (faktorozása) elkerülhetetlen. A meghatározás szilárd kálium-hidrogénkarbonáttal történik. A $KHCO_3$ pontosan bemérhető, szilárd, sztöchiometrikus, stabil (mert nem szereti a nedveséget).

A titrálás reakcióegyenlete:



Használt vegyszerek:

- kb. 0,1 g $KHCO_3$
- 0,1 M névleges koncentrációjú HCl mérőoldat
- indikátor: metilvörös

A titrálás lépései:

1. Analitikai mérlegen visszaméréssel kimérünk kb. 0,1 g $KHCO_3$ -ot, melynek pontos mennyiségét feljegyezzük (m_{KHCO_3}).
2. 30 cm³ desztillált vízben feloldjuk.
3. Hozzáadunk 2 csepp metilvörös indikátort
4. Megtitráljuk a kb. 0,1 M-os HCl mérőoldattal az indikátor átmeneti színéig, ami hagymavörös.
5. Kiforraljuk a keletkezett széndioxidot (mert az a végpont észlelését bizonytalanná teszi), így újból citromsárga színű lesz az oldat.
6. Újabb mérőoldatot csepegtetünk hozzá, míg az indikátor újból átmeneti színével jelzi, hogy eép körül járunk. Ez a mérés végpontja.

A titrálás kiértékelése:

Ajánlott több párhuzamos mérést végezni, azaz több lombikba is bemérünk kálium-hidrogénkarbonátot és azokat külön-külön megtirtáljuk, majd a kiszámított faktorok számtani közepét vesszük a figyelembe mint sósav faktor.

$$n_{KHCO_3} = \frac{m_{KHCO_3}}{M_{KHCO_3}}$$

A reakció egyenlet sztöchiometriai együtthatói alapján a molarány 1:1, azaz

$$n_{KHCO_3} = n_{HCl}$$

Tehát n_{HCl} mmol volt V_{HCl} ml mérőoldatban, így a mérőoldat koncentrációja:

$$\frac{n_{HCl}}{V_{HCl}} = c_{HCl_{pontos}}$$

A sósav mérőoldat faktora így:

$$\frac{c_{HCl_{pontos}}}{c_{HCl_{névleges}}} = f$$

n párhuzamos mérés esetén (azonos HCl oldattal) a számolt faktorokat átlagoljuk:

$$f = \frac{\sum_{i=1}^n f_i}{n}$$

Ahol a **naracs szín** a mért, felírt mennyiségeket jelenti

n_{KHCO_3} [mmol]: mérendő $KHCO_3$ kémiai mennyisége

M_{KHCO_3} $\left[\frac{mg}{mmol}\right]$: $KHCO_3$ moláris tömege

m_{KHCO_3} [mg]: bemért $KHCO_3$ tömege

n_{HCl} [mmol]: a HCl kémiai mennyisége

V_{HCl} [cm^3 ; ml]: a HCl mérőoldat fogyása

$c_{HCl_{pontos}}$ $\left[\frac{mmol}{ml}; \frac{mol}{l}\right]$: a HCl mérőoldat pontos koncentrációja

$c_{HCl_{névleges}}$ $\left[\frac{mmol}{ml}; \frac{mol}{l}\right]$: a HCl mérőoldat névleges koncentrációja, most 0,1 M

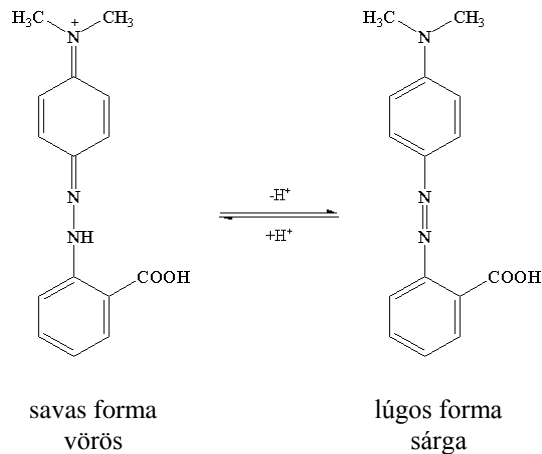
f [-]: a HCl mérőoldat faktora, ami a mérés célja volt.

Indikátor: metilvörös

$pH = 5,3$ -nél jelezi a végpontot, azaz $[H^+]_{végpont} = 10^{-5,3} M$

$[OH^-] = 10^{-8,7} M$: csak a víz disszociációjából keletkezik

Átmeneti színe: hagymavörös

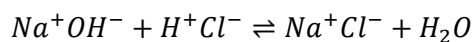


2.1.5.1. ábra A metilvörös pH függő egyensúlya

NaOH mérése

A NaOH erős bázis, így teljesen disszociál. Mérőoldatként használhatjuk erős és gyengesavak meghatározásához. A szilárd NaOH-oldat hidroszkópos, így a felületén több-kevesebb karbonátot tartalmaz (a levegő CO_2 -ja miatt), tehát közvetlen beméréssel nem készíthetjük belőle pontos mérőoldatot, illetve hígítani kiforralt desztillált vízzel kell. Egy oldat NaOH tartalmának meghatározását sósav mérőoldattal végezzük.

A titrálás reakcióegyenlete:



Használt vegyszerek:

- ismeretlen koncentrációjú NaOH oldat
- faktorozott HCl mérőoldat
- kiforralt desztillált víz
- indikátor: metilvörös

A titrálás lépései:

1. Kimérünk a titrálólombikba $10,0 \text{ cm}^3$ NaOH oldatot
2. Felhígítjuk kb. 50 cm^3 -re kiforralt desztillált vízzel
3. Hozzáadunk 2 csepp metilvörös indikátort
4. Megtitráljuk faktorozott HCl mérőoldattal az indikátor átmeneti színéig, ami hagymavörös.

A titrálás kiértékelése:

Ajánlott több párhuzamos mérést végezni, azokat külön-külön megtírtálni, és a mért fogyások számtani közepét vegyük a figyelembe kiértékeléskor.

- Ha sósav mérőoldat pontos koncentrációja $c_{\text{HCl}} \left[\frac{\text{mmol}}{\text{ml}} \right]$, és
- a mérőoldat mért fogyásainak átlaga $V_{\text{HCl}} [\text{ml}]$, akkor
- a NaOH-hoz $n_{\text{HCl}} [\text{mmol}]$ -t adtunk hozzá a végpontig, azaz

$$n_{\text{HCl}} = c_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}$$

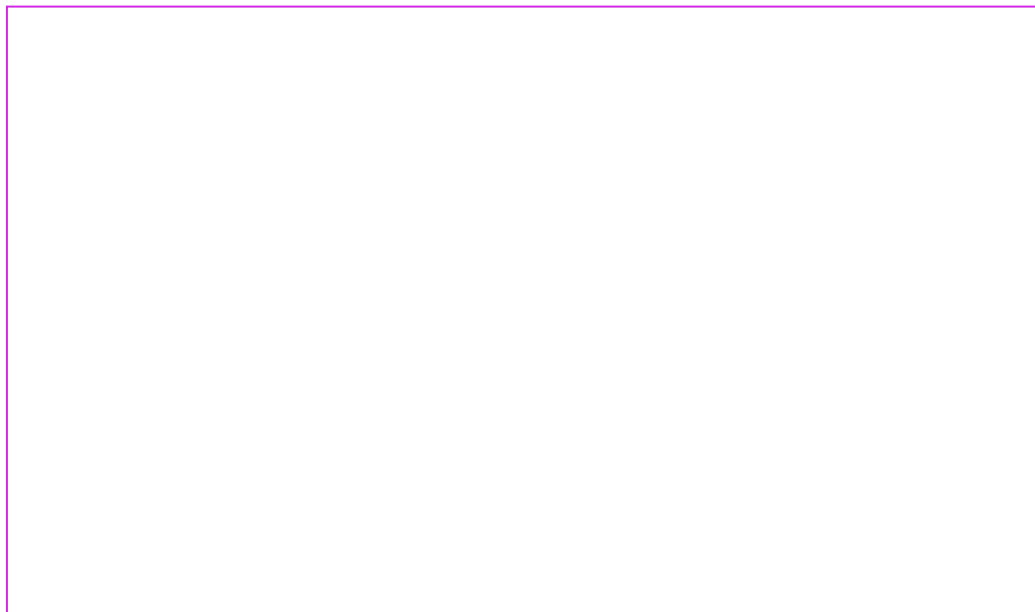
A reakció egyenlet stöchiometriai együtthatói alapján a molarány 1:1, azaz

$$n_{\text{NaOH}} = n_{\text{HCl}}$$

Tehát n_{NaOH} $mmol$ volt $V_{NaOH} = 10\text{ ml}$ -ben (a hígítással nem adtunk hozzá mérendő anyagot), tehát a $NaOH$ oldatunk koncentrációja:

$$\frac{n_{NaOH}}{V_{NaOH}} = c_{NaOH}$$

VIDEÓ



2.1.5.1. videó. Mintaelőkészítés



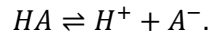
2.1.5.2. videó. Sósav faktorozása

2.2. EGYÉRTÉKŰ GYENGE SAV VAGY GYENGE BÁZIS TITRÁLÁSA

A mérőoldat ebben az esetben is erős sav vagy erős bázis. A gyenge savak, illetve bázisok disszociációja nem teljes, ezért egyensúlyi reakcióval kell számolnunk. Az oldatban a mérendő anyag két formában (disszociálatlan és disszociált) van jelen, a mérés célja, hogy ezek együttes mennyiségét határozzuk meg.

2.2.1. *Nem teljes a disszociáció*

Gyenge sav titrálása



Egyensúlyi állandó az ún. **sav disszociációs állandó**. Az egyensúlyi összefüggés:

$$K_s = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}.$$

Gyenge bázis titrálása

A gyenge bázisok általános disszociációs összefüggése:



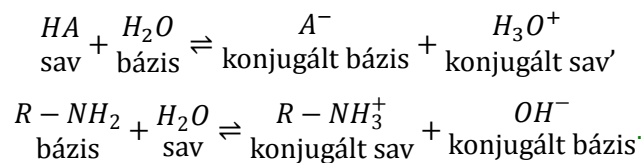
Például: aminok mérése: $R - NH_2 + H_2O \rightleftharpoons R - NH_3^+ + OH^- \Rightarrow K_b = \frac{[R-NH_3^+][OH^-]}{[R-NH_2]}.$

A gyenge fém-hidroxid bázisok esetében [pl. $Mg(OH)_2$], mivel ezek disszociálatlan állapotban nagyon rosszul oldódnak, a koncentrációviszonyokat döntően az oldhatósági egyensúly határozza meg. Ezt az esetet itt nem tárgyaljuk.

A Brønsted–Lowry-féle sav-bázis elmélet

A H^+ leadására képes anyagokat nevezzük **savnak** (protondonor),

a H^+ felvételére képes anyagokat pedig **bázisnak** (protonakceptor).



Látható, hogy a vízmolekula sav és bázis is lehet (amfotér jelleg).

2.2.2. *Logaritmikus egyensúlyi diagram egyértékű gyenge sav esetében*

Itt az egyensúlyi diagramban a hidrogén- és hidroxidionok mellett a gyenge sav vagy bázis disszociált és disszociálatlan formájának koncentrációját is meg kell jeleníteni.

A mérendő sav kétféle formában van jelen az oldatban:	$c_{sav} = [HA] + [A^-]$ $c_{sav} - [A^-] = [HA]$	/ $-[A^-]$
Az egyensúlyi állandó képletébe $[HA]$ -t behelyettesítve:	$K_s = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = \frac{[H^+][A^-]}{c_{sav} - [A^-]}$ $K_s c_{sav} - K_s [A^-] = [H^+][A^-]$ $K_s c_{sav} = [H^+][A^-] + K_s [A^-]$ $K_s c_{sav} = ([H^+] + K_s) * [A^-]$	/ * $(c_{sav} - [A^-])$ / + $(K_s [A^-])$ / : $([H^+] + K_s)$
A disszociált forma – vagyis a konjugált bázis – mennyisége kifejezve:	$\frac{K_s c_{sav}}{[H^+] + K_s} = [A^-]$	

2.2.2.1. táblázat. A koncentráció logaritmus és a pH közötti összefüggés levezetése

Ha ebből az összefüggésből $[A^-]$ logaritmusát képezzük, az a pH-nak nemlineáris függvénye lesz, amely két, közelítőleg egyenes és az ezeket összekötő görbe szakaszból áll.

$[H^+] \gg K_s$ esetén: K_s elhanyagolható $[A^-] \cong \frac{K_s c_{sav}}{[H^+]}$	$[H^+] \ll K_s$ esetén: $[H^+]$ elhanyagolható $[A^-] \cong c_{sav}$
$\lg[A^-] \cong \lg K_s + \lg c_{sav} - \lg[H^+]$ $\lg[A^-] \cong \text{pH} + \lg K_s + \lg c_{sav}$	$\lg[A^-] \cong \lg c_{sav}$

2.2.2.2. táblázat. Az $[A^-]$ közelítő egyeneseinek egyenlete

Az analógia végig követhető, ha nem a disszociált formát fejezzük ki az első egyenletből, hanem a disszociálatlant. Az eredmény:

$\frac{[H^+]c_{sav}}{[H^+] + K_s} = [HA]$	
$[H^+] \gg K_s$ esetén: K_s elhanyagolható $\lg[HA] \cong \lg c_{sav}$	$[H^+] \ll K_s$ esetén: H^+ elhanyagolható $\lg[HA] \cong -\text{pH} - \lg K_s + \lg c_{sav}$

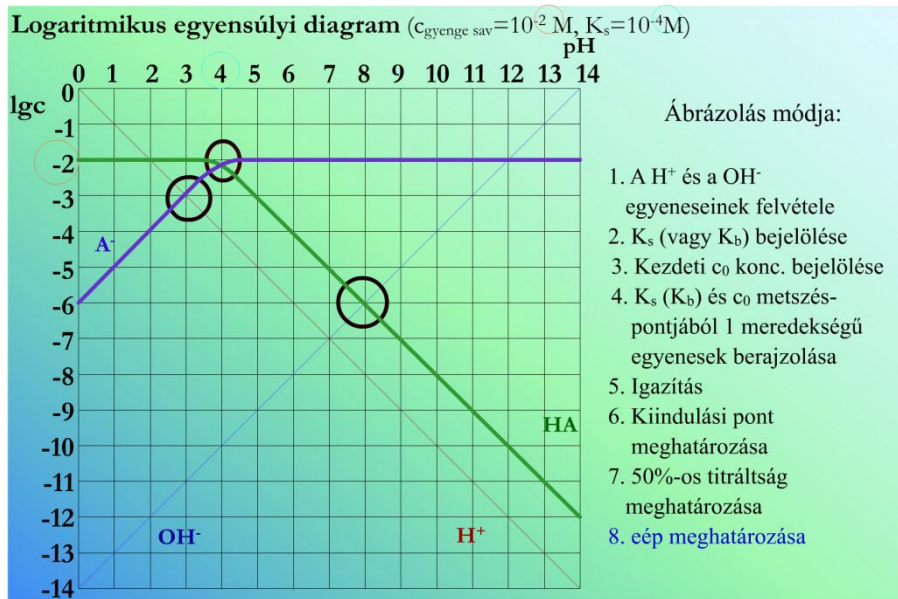
2.2.2.3. táblázat. A $[HA]$ közelítő egyeneseinek egyenlete

A kapott 4 egyenletet ábrázoljuk a logaritmikus egyensúlyi diagramon.

Ahol az **y tengely**: $\lg[A^-]$ és $\lg[HA]$, azaz $\lg c$,
 az **x tengely**: pH .

A négy egyenes közül kettő vízszintes ($\lg c$ magasságban), ezek azokban a tartományokban érvényesek, melyekben a sav közel teljes egészében a disszociálatlan, illetve a disszociált formában van. A másik két egyenes meredeksége (vagyis a fenti összefüggésekben a pH szorzótényezője) 1, illetve -1 , tengelymetszete $+\lg K_s + \lg c_{sav}$, illetve $-\lg K_s + \lg c_{sav}$.

Abban a pH-tartományban, ahol a pH és $\text{p}K_s$ összemérhető nem közelíthető a függvény az egyenesek egyikével sem, itt a két egyenes szakaszt összekötő görbe érvényes.



2.2.2.1. ábra. Egyértékű gyenge sav vagy bázis logaritmusos egyensúlyi diagramja

$\alpha_t = 0\%$	$\text{HA} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{A}^-$ <p>Ha elhanyagoljuk a víz disszociációját:</p> $[\text{H}^+] \cong [\text{A}^-]$
$\alpha_t = 50\%$	$[\text{HA}] \cong [\text{A}^-]$ $K_s = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \Rightarrow \text{pH} = \text{p}K_s$
$\alpha_t = 100\%$	<p>Tiszta sóoldat van, ami lúgosan hidrolizál</p> $\text{A}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HA} + \text{OH}^-$ <p>bázis + sav \rightleftharpoons konj. sav + konj. bázis</p> $[\text{HA}] \cong [\text{OH}^-]$ <p>A konjugált bázis disszociációs állandója = hidrolízis állandó:</p> $K_b = K_h = \frac{K_v}{K_s} = \frac{[\text{HA}][\text{OH}^-]}{[\text{A}^-]} = \frac{[\text{OH}^-]^2}{c_0 - [\text{OH}^-]}$

2.2.2.4. táblázat. Kitüntetett pontok a titrálás során (az $\text{lg}c\text{-pH}$ függvények metszéspontjai)

2.2.3. Logaritmusos egyensúlyi diagram egyértékű gyenge bázis esetében

A fenti levezetési analógia végigvezethető egyértékű bázisra is. Azonban az egyszerűség kedvéért csupán elég a jelöléseket átírnunk, a következőképpen:

c_{sav}	helyett	$c_{\text{bázis}}$
savas pH-n több $[\text{HA}]$		savas pH több $[\text{BH}^+]$
lúgos pH-n több $[\text{A}^-]$		lúgos pH-n több $[\text{B}]$
K_s		$K_s = \frac{K_v}{K_b}$

2.2.3.1. táblázat.

A logaritmusos egyensúlyi diagramon ábrázolandó mennyiségek egyértékű gyenge bázis esetén

Mivel:

$$K_b = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]} = \frac{[BH^+][OH^-][H^+]}{[B][H^+]} = \frac{[BH^+]K_v}{[B][H^+]} = K_v * \frac{1}{K_s}$$

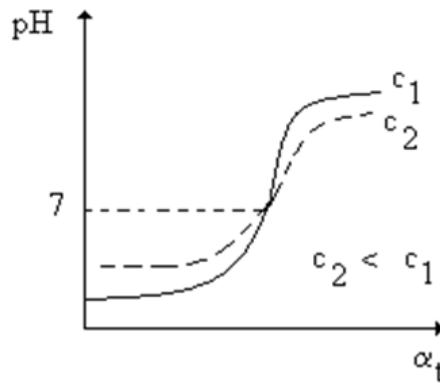
Például:

$$K_b = 10^{-5}M \Rightarrow K_s = \frac{10^{-14}}{10^{-5}} = 10^{-9}M.$$

2.2.4. Titrálási görbe

Minél nagyobb az egyensúlyi állandó, annál nagyobb a változás a titrálási görbén. K_s ; $K_b > 10^{-7}$. Ha ez a feltétel a mérendő savra vagy bázisra nem teljesül, akkor az közvetlenül nem titrálható. Megoldási lehetőségek:

- a mérendő molekula kémiai átalakítása erősebb savvá, illetve bázissá (pl. bórsav mérése vicinális diolok jelenlétében),
- mérés nemvizes közegben.



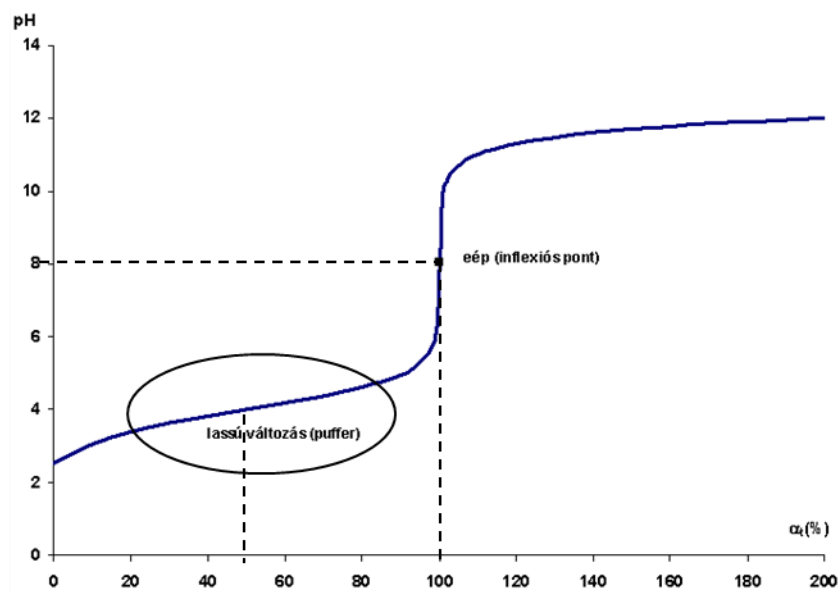
2.2.4.1. ábra. Gyenge savak titrálási görbéi

2.2.5. Pufferek

A pufferek olyan oldatok, amelyek egy gyenge savat és a savnak egy erős bázissal alkotott sóját (vagy gyenge bázist és ennek egy erős savval alkotott sóját) tartalmazzák összemérhető mennyiségben. Ha ugyanis pl. a gyenge savból és sójából álló pufferhez erős savat adunk, akkor a só mennyisége csökken, és egyenértékű gyenge sav szabadul fel – ez azonban kevésbé disszociál. Ha ugyanehhez a rendszerhez erős lúgot adunk, az a szabad savval reagál, így a hidroxidion helyett egy gyenge bázisra – a savból képződő anionra – cserélődik.

gyenge sav erős bázissal alkotott sója + szabad gyenge sav $CH_3COO^-; Na^+; CH_3COOH$	→ kezdeti pH
↓ + erős sav (HCl)	→ az erős sav teljesen disszociál
⇓ sok H^+	
⇓ az acetátanion felvesz H^+ -t	
↓ gyenge savvá alakul (CH_3COOH)	→ ami csak részben disszociál
⇓ csökken a H^+ mennyisége	→ a pH a kezdetihez képest alig változik

2.2.5.1. táblázat. A pufferhatás mechanizmusa

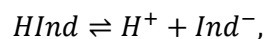


2.2.5.1. ábra. A pufferek tompító hatása 50%-os titráltsági fok körül

A tompító hatás erősségét a **pufferkapacitással** szokták jellemezni. Ez azt mutatja meg, hogy a pH egységnyi megváltoztatásához 1 l pufferoldathoz hány ml 1 M-os erős savat vagy lúgot kell adni.

2.2.6. Indikátorok

A sav-bázis indikátorok maguk is gyenge savak vagy bázisok; az indikátor molekulában a proton leadását vagy felvételét olyan szerkezeti átalakulás kíséri, amely színváltozást okoz.



$$K_i = \frac{[H^+][Ind^-]}{[HInd]}$$

Átsapási pont: ahol az indikátor két formáját azonos mennyiségben tartalmazza az oldat. Ezt az állapotot – az átmeneti szint – igyekszünk észlelni, ez lesz a titrálás végpontja.

$$[HInd] = [Ind^-].$$

Indikátor kitevő vagy indikátor exponens: az átcsapási pont pH-ja.

$$pK_i = p_i = pH_{\text{átcsapás}}.$$

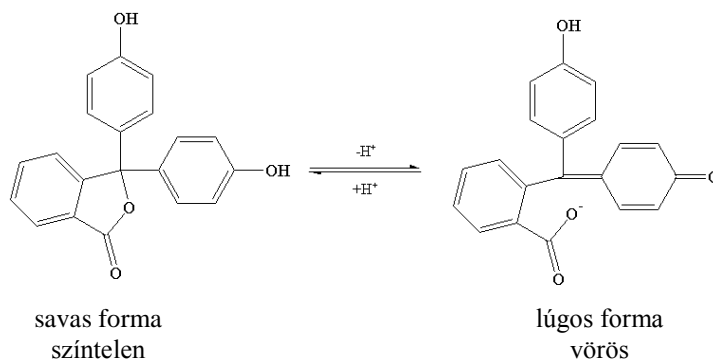
Az **átcsapási tartomány** az a pH-intervallum, melyben szabad szemmel látható, hogy nem csak a savas vagy csak a lúgos forma van jelen. Ehhez az kell, hogy a két forma koncentrációjának aránya kb. 0,1 és 10 közé essék. Maximum 10-szeres felesleg:

$0,1 \leq \frac{[Ind^-]}{[HInd]} \leq 10$ $\frac{[Ind^-]}{[HInd]} = \frac{K_i}{[H^+]}$	
<p>Minimum</p> $[H^+]_{\min} = \frac{K_i}{0,1}$ $-(\lg[H^+]_{\min}) = -(\lg K_i - \lg 0,1)$ $pH_{\min} = pK_i - 1$	<p>Maximum</p> $[H^+]_{\max} = \frac{K_i}{10}$ $-(\lg[H^+]_{\max}) = -(\lg K_i - \lg 10)$ $pH_{\max} = pK_i + 1$
$\Delta pH = pH_{\max} - pH_{\min} = 1 + 1 = 2$	

2.2.6.1. táblázat. Az átcsapási tartomány levezetése

Fenoltalein

$$pH_{\text{átcsapás}} = 9,1$$

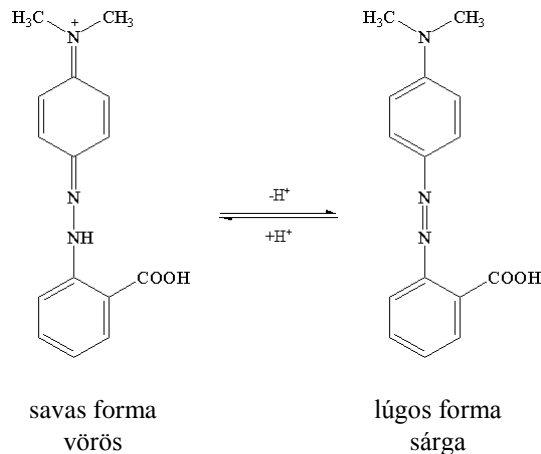


2.2.6.1. ábra. A fenoltalein pH függő egyensúlya

A színváltozást a kinoidális szerkezet kialakulása okozza, amely bizonyos hullámhossztartományban elnyeli a látható fényt. A **titrálás végpontja** az átmeneti színnél van (rózsaszín).

Metilvörös

$$pH_{\text{átcsapás}} = 5,3$$



2.2.6.2. ábra. A metilvörös pH függő egyensúlya

Hasonló szerkezeti változás az alapja az azofestékek (pl.: metilvörös) működésének is. A metilvörös az átcsapási pontban hagymaszínű.

Indikátorhiba

Az indikátort úgy választjuk meg, hogy az egyenértékponthoz közel jelezzen. Általában $pH_{\text{éép}} \neq pH_{\text{átcsapás}}$, azaz az átmeneti szín nem pont a titrálás egyenértékpontjában jelentkezik, a végpontban vagy kis alultitráltság vagy kis túltritráltság van. Ez az indikátorhiba egyik összetevője. Mivel az indikátorok is gyenge savak/bázisok, ezért magát az indikátort is megtitráljuk. Tekintve, hogy kis mennyiségű indikátort használunk, az utóbbi hibakomponens általában elhanyagolható.

Például: számítsuk ki az indikátorhibát (relatívhibát), ha egy 0,01 M-os erős savat titrálunk és fenolftalein indikátort használunk ($p_i \approx 9$). Az átcsapási pont $pH = 9$ -nél van, tehát túltritráltunk. A fölösleget az OH^- -ionok koncentrációja adja, ezt kell a meghatározandó (analitikai) koncentrációra vonatkoztatnunk.

$$\frac{[OH^-]}{c_0} = \frac{10^{-5} M}{c_0} = 10^{-3} = 0,1\%.$$

tehát ebben az esetben a fenolftalein alkalmazható. Kisebb koncentrációk meghatározásához azonban már az egyenértékponthoz ($pH = 7$) közelebb átcsapó indikátorra van szükség.

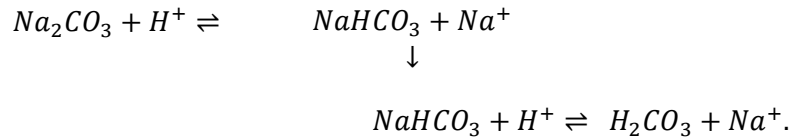
2.3. TÖBBÉRTÉKŰ SAVAK ÉS BÁZISOK TITRÁLÁSA

A többértékű savak és bázisok disszociációja lépcsőzetes, az oldatban a különböző formák együtt vannak jelen. A disszociációállandóktól függően előfordul, hogy egy többértékű savat vagy bázist lépcsőzetesen is meg lehet titrálni. Erős savakkal, illetve bázisokkal a gyenge savat, illetve bázist a sóikból fel lehet szabadítani; ezen alapulnak a kiszorításos titrálások.

2.3.1. Erős bázis karbonátjának meghatározása erős savval

Ebben a fejezetben először a karbonátionok (mint bázis) meghatározását tárgyaljuk. A mérendő oldatban erős bázisok karbonátsói vannak. A titrálást tehát úgy is felfoghatjuk, hogy az erős sav (pl.

sósav) a gyengébbet (szénsav) kiszorítja sójából. Ezért az ilyen meghatározást kiszorításos titrálásnak is szokták nevezni.



Az egyensúlyi viszonyok leírása

A szénsav (H_2CO_3) disszociációja többlépcsős.

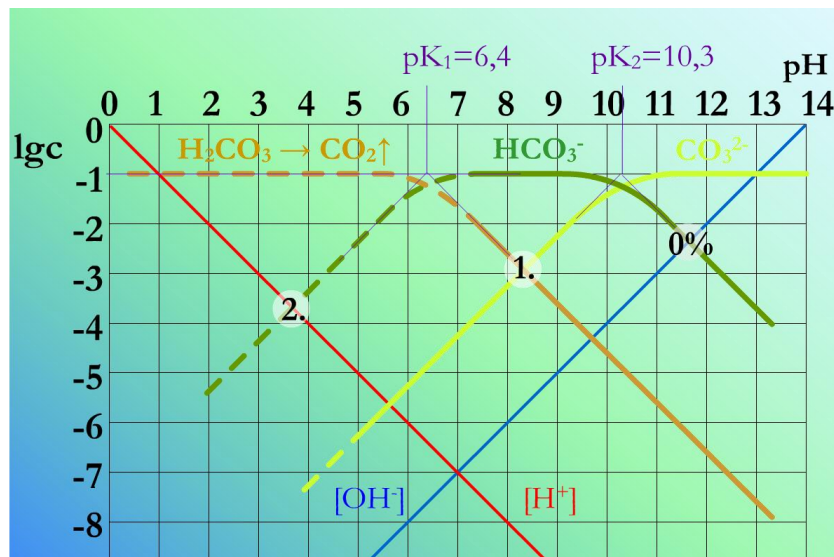
Savas közegben ($\text{pH} < 5$) széndioxid formájában távozik a mintából: $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \uparrow$.

$\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$	$\text{p}K_1 = 6,4$
$\text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-}$	$\text{p}K_2 = 10,3$

2.3.1.1. táblázat. A szénsav disszociációs állandói

Kiindulás:	<p>Az oldatban disszociált CO_3^{2-} és HCO_3^- van jelen számottevő mértékben</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>a karbonát hidrolizál:</p> $\text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{OH}^-$ <p style="text-align: center;">↓</p> <p>így nagyon jó közelítéssel (a víz öndisszociációjának elhanyagolásával) igaz, hogy</p> $[\text{HCO}_3^-] = [\text{OH}^-]$
1. lépés:	<p>A HCO_3^- leadhat (CO_3^{2-}) vagy felvehet hidrogént (H_2CO_3).</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>egyensúly van: $[\text{CO}_3^{2-}] = [\text{H}_2\text{CO}_3]$</p> <p>itt a pH éppen a $\text{p}K_1$ és a $\text{p}K_2$ számtani közepe:</p> $\text{pH} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2}$
2. lépés:	Gyakorlatilag nincs mert $\text{pH} < 5$ -nél a széndioxid gázként távozik

2.3.1.2. táblázat. A szénsav titrálásának kiemelt pontjai



2.3.1.1. ábra. A szénsav logaritmikus egyensúlyi diagramja

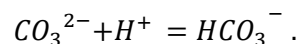
Warder-féle titrálás

Meg lehet-e határozni a Na_2CO_3 -ot és NaHCO_3 -ot egymás mellett?

A mérőoldat: HCl – a sósav mérőoldattal lépcsőzetesen titráljuk a kétértékű bázist.

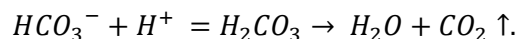
1. lépésben: V1 fogyás

Végpontjelzés fenolftalein indikátorral, melynek az átcsapása $\text{pH} \approx 8-9$ körül van. Ekkor a **karbonát elreagál** hidrogén-karbonáttá.



2. lépésben: V2 fogyás

Végpontjelzés metilvörös indikátorral, melynek az átcsapása: $\text{pH} \approx 5$ körül van. Ekkor a **hidrogén-karbonát is elreagál**. A hidrogén-karbonát egy része benne volt az eredeti mintában, másik része a karbonátiónból keletkezett. Ebben a lépésben a kettő összegét mérjük.



Kiértékelés:

Ha $V_1 = V_2$, akkor kezdetben **nem volt HCO_3^-** .

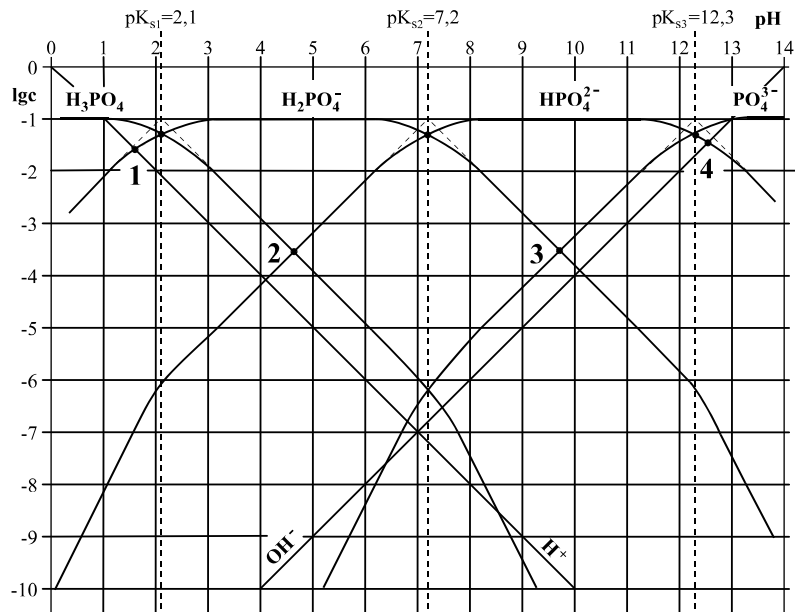
Ha $V_1 < V_2$, akkor $V_1 \Rightarrow \text{CO}_3^{2-}$ és $(V_2 - V_1) \Rightarrow \text{HCO}_3^-$ mennyiségére lehet következtetni.

Ha $V_1 > V_2$, akkor **karbonáton kívül van más erős lúg is**, pl.: NaOH .

2.3.2. Foszforsav titrálása

$\text{H}_3\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{H}_2\text{PO}_4^-$	$\text{pK}_1 = 2,1$	Egyértékű savként \rightarrow lehet vizsgálni
$\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$	$\text{pK}_2 = 7,2$	Kétértékű savként \rightarrow lehet vizsgálni
$\text{HPO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{PO}_4^{3-}$	$\text{pK}_3 = 12,3$	Háromértékű savként \rightarrow Túl gyenge a disszociáció, nem titrálható

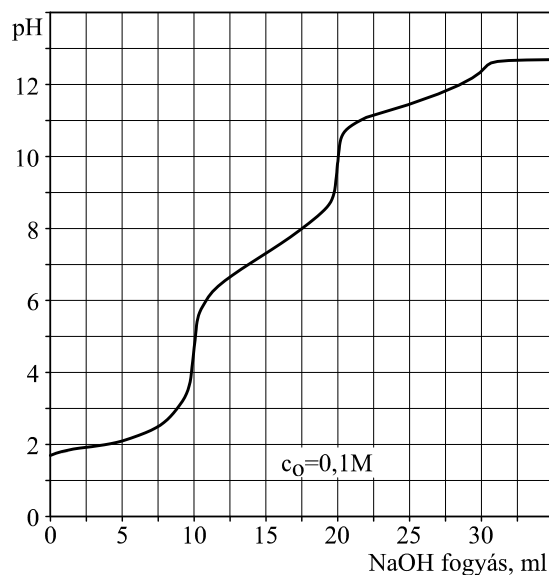
2.3.2.1. táblázat. A foszforsav disszociációs állandói



2.3.2.1. ábra. Foszforsav logaritmusos egyensúlyi diagramja
 $c_0 = 0,1 \text{ M}$

H_3PO_4 és a NaH_2PO_4 együttes meghatározása

- 5. lép.: H_3PO_4 elreagál \rightarrow első lépésben csak ez reagál.
- 3. lép.: $H_2PO_4^- \rightarrow HPO_4^{2-}$ is reagál a második lépésben.

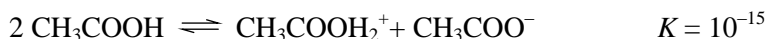


2.3.2.2. ábra. 10 ml 0,1 mólus foszforsav titrálása
 0,1 mólus NaOH-dal

2.4. SAV-BÁZIS TITRÁLÁSOK NEMVIZES KÖZEGBEN

Nemvizes oldószer alkalmazása sok esetben lehetővé teszi olyan anyagok vagy keverékek meghatározását, amelyek vizes oldatban nem titrálhatók, mert túl gyenge savak, illetve bázisok, vagy túl kicsi az eltérés a komponensek disszociációs állandói között, vagy az anyag nem oldódik eléggé vizes közegben.

Elvileg minden olyan oldószerben lehet sav-bázis titrálásokat végezni, amelyből öndisszociációs reakcióban kation és anion jön létre. A gyakrabban alkalmazott oldószerek - a vízhez hasonlóan - azonban általában protont cserélnek (Brönsted savként és bázisként viselkednek):



Ezekben az oldószerekben értelmezhető a pH is:

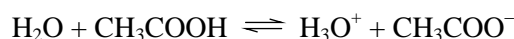
$$\text{pH} = -\lg[\text{HSolv}^+],$$

ahol HSolv^+ a protonáltoldószermolekula.

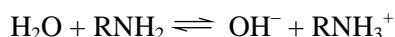
A titrálás szempontjából az anyagok savas, illetve bázisos jellegét az illető oldószerhez képest értelmezhetjük ("oldószerelmélet").

Eszerint egy adott közegben sav az olyan anyag, amely a protonált oldószer-molekulák (kationok) koncentrációját növeli, míg bázis, ami a deprotonált oldószer-molekulák (anionok) koncentrációját gyarapítja.

Így a sav-bázis jelleg relatív: a víz pl. a jégcetben bázisként viselkedik:



míg aminokban sav:



Ennek az a következménye, hogy a vízhez képest savas oldószerek a savak erősségére differenciálónak hatnak, míg a bázicitást kiegyenlítik és felerősítik. Hasonlóan, a bázikus oldószer a bázisokat differenciálja és a savak erősségét egyenlíti ki és növeli meg.

Így olyan savak és bázisok is megtitrálhatók, amelyek vizes közegben túl gyengék, illetve egymás mellett mérhetőek olyan vegyületek, melyeknek vízben a $\text{p}K_s$ vagy $\text{p}K_b$ értéke közel esik. Bizonyos esetekben az is kihasználható, hogy az öndisszociációs állandóból sokkal szélesebb pH-skála adódik, mint vízben (pl. etanolban kerekén 19 egység), így egymás után több komponens meghatározható. A gyakorlatban oldószerkeverékek segítségével lehet a kívánt differenciáló hatást és oldhatóságot elérni.

Néhány gyakran alkalmazott mérőoldat:

- HClO_4 jégcetben
- HCl izopropanolban
- KOH alkoholban (MeOH , EtOH)
- $\text{R}_4\text{N}^+\text{OH}^-$ izopropanolban
- Na -acetát jégcetben

A végpontjelzés többnyire műszeres módszerrel (pl. potenciometriáson) oldható meg.

A nemvizes közegű sav-bázis titrálásokat általában gyenge szerves bázisok (pl. alkaloidok) és savak mérésére használják.

2.5. KÉRDÉSEK ÉS SZÁMOLÁSI FELADATOK

2.5.1. Számolási segédlet (egyértékű sav-bázis titrálásokhoz)

	Gyenge sav titrálása erős bázissal	Gyenge bázis titrálása erős savval
Kiinduláskor $\alpha_t = 0$	$HA \rightleftharpoons A^- + H^+$ $K_s = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$ <p>mivel: $c_{sav} = [HA] + [A^-]$ és $[H^+] = [A^-]$</p> $K_s = \frac{[H^+]^2}{c_{sav} - [H^+]}$ <p>mivel: $c_{sav} \gg [H^+]$</p> $K_s \approx \frac{[H^+]^2}{c_{sav}}$	$B + H_2O \rightleftharpoons BH^+ + OH^-$ $K_b = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]}$ <p>mivel: $c_b = [B] + [BH^+]$ és $[BH^+] = [OH^-]$</p> $K_b = \frac{[OH^-]^2}{c_b - [OH^-]}$ <p>mivel: $c_b \gg [OH^-]$</p> $K_b \approx \frac{[OH^-]^2}{c_b}$
Alutitráláskor $0 < \alpha_t < 1$	$HA \rightleftharpoons A^- + H^+$ $K_s = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$ <p>mivel a só disszociációja visszaszorítja a gyenge sav disszociációját: [A⁻] csak a só disszociációjából [HA] a maradék, ami még nem reagált el: c_{sav}</p> $K_s = [H^+] \frac{n_{s\acute{o}}}{n_{sav}}$ $n_{sav} = n_{sav_{kezdeti}} - n_{s\acute{o}}$	$B + H_2O \rightleftharpoons BH^+ + OH^-$ $K_b = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]}$ <p>mivel a só disszociációja visszaszorítja a gyenge bázis disszociációját [BH⁺] csak a só disszociációjából [B] a maradék, ami még nem reagált el: $c_{b\acute{a}zis}$</p> $K_b = [OH^-] \frac{n_{s\acute{o}}}{n_{b\acute{a}zis}}$ $n_{b\acute{a}zis} = n_{b\acute{a}zis_{kezdeti}} - n_{s\acute{o}}$
Eép-ban $\alpha_t = 1$	<p>a só hidrolizál:</p> $A^- + H_2O \rightleftharpoons HA + OH^-$ $K_h = \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]} = \frac{K_v}{K_s}$ <p>mivel: $[HA] = [OH^-]$ és $c_{s\acute{o}} = [HA] + [A^-]$</p> $K_h = \frac{[OH^-]^2}{c_{s\acute{o}} - [OH^-]}$ <p>mivel: $c_{s\acute{o}} \gg [OH^-]$</p> $K_h \approx \frac{[OH^-]^2}{c_{s\acute{o}}}$	<p>a só hidrolizál:</p> $BH^+ \rightleftharpoons B + H^+$ $K_h = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} = \frac{K_v}{K_b}$ <p>mivel: $[B] = [H^+]$ és $c_{s\acute{o}} = [B] + [BH^+]$</p> $K_h = \frac{[H^+]^2}{c_{s\acute{o}} - [H^+]}$ <p>mivel: $c_{s\acute{o}} \gg [H^+]$</p> $K_h \approx \frac{[H^+]^2}{c_{s\acute{o}}}$

<p>Túltitráláskor $1 < \alpha_t$</p>	<p>közel a eéphez:</p> $K_h = \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]} = \frac{[HA]([OH^-]_{s\acute{o}} + [OH^-]_{b\acute{a}z\acute{i}s})}{c_{s\acute{o}} - [HA]}$ <p>jelentős túltitrálás: <i>felesleg OH⁻</i> $\frac{V_{\acute{o}sszes}}$</p>	<p>közel a eéphez:</p> $K_h = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} = \frac{[B]([H^+]_{s\acute{o}} + [H^+]_{s\acute{a}v})}{c_{s\acute{o}} - [B]}$ <p>jelentős túltitrálás: <i>felesleg H⁺</i> $\frac{V_{\acute{o}sszes}}$</p>
---	--	--

Egyértékű gyenge sav titrálása esetében:

- Alutitráltság:

$$\alpha_t = \frac{[A^-]}{c_{s\acute{a}v}} = \frac{\text{megtitrált}}{\text{teljes konc.}}$$

- Túltitráltság:

$$\alpha_t = 1 + \frac{[OH^-]}{c_{s\acute{a}v}} = 1 + \frac{\text{felesleg}}{\text{teljes konc.}}$$

[HA] : még nem titrált,

[A⁻] : már megtitrált,

[OH⁻] : felesleg

2.5.2. Gyenge sav illetve bázis egyensúlyi diagram készítő

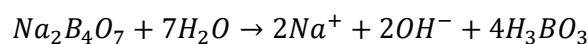
A diagramkészítő [innen](#) letölthető.

2.5.3. Kidolgozott feladatok

1. Példa

Ha a bóraxot – $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, móltömege 381,4 – vízben feloldjuk, bórsav (igen gyenge sav, disszociációja elhanyagolható), nátrium- és hidroxid-ionok keletkeznek. Írja fel a reakcióegyenletet! 0,9211 g bóraxból 100,0 ml törzsoldatot készítünk, és a törzsoldat 20,0 ml-es részleteit használjuk egy 0,05 M névleges koncentrációjú sósav mérőoldat faktorozásához. Három 20,0 ml-es részletet titrálunk meg, a mérőoldatból 20,24; 20,36 és 20,24 ml fogy. Számítsa ki a mérőoldat pontos koncentrációját és a faktor értékét!

A bórax vizes oldásának egyenlete:



$$M_{Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O} = 381,4 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}$$

$$1 \text{ mmol} \rightarrow 381,4 \text{ mg} \Rightarrow n_{Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O} = \frac{921,1 \text{ mg}}{381,4 \text{ mg/mmol}} = 2,415 \text{ mmol}$$

$$n_{b\acute{o}r\acute{a}x} \leftarrow 921,1 \text{ mg}$$

A 100,0 ml-es törzsoldatból 20,0 ml-es részleteket mérünk

$$\frac{20}{100} \cdot 2,415 = 0,483 \text{ mmol}$$

Egységnyi bóraxból kétszer annyi hidroxid-ion keletkezik

$$1 : 2 \Rightarrow n_{\text{bóráx}} : n_{\text{OH}^-} = \frac{n_{\text{bóráx}}}{1} * 2 = 0,966 \text{ mmol}$$

melyre ugyanekkora anyagmennyiségű sósav fogy.

A sósav fogyásának átlagos értéke:

$$V_{\text{fogyás}} = \frac{V_1 + V_2 + V_3}{3} = \frac{20,24 \text{ ml} + 20,36 \text{ ml} + 20,24 \text{ ml}}{3} = 20,28 \text{ ml}$$

$$c_{\text{HCl}} = \frac{0,966 \text{ mmol}}{20,28 \text{ ml}} = 0,0476 \text{ M}$$

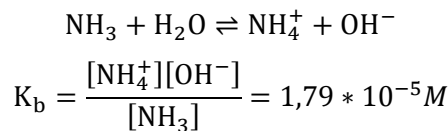
$$f_{\text{HCl}} = \frac{c_{\text{pontos}}}{c_{\text{névleges}}} = \frac{0,0476 \text{ M}}{0,5 \text{ M}} = 0,953$$

2. Példa

250 ml 0,05 M-os vizes ammónia oldatban hány g ammónium-kloridot kell feloldani, hogy 9,0 pH-jú pufferoldatot kapjunk? Az ammónia disszociációs állandója $K_b = 1,79 \cdot 10^{-5} \text{ M}$;

Cl: 35,5; H: 1,0; N: 14,0

Az ammónia vízben az alábbi egyenlet szerint disszociál:



Az előállítandó pufferoldat pH-ja 9,0, azaz a $\text{pOH}=5$, tehát $[\text{OH}^-]=10^{-5} \text{ M}$. Kifejezhető, hogy mennyi a disszociálatlan NH_3 és a só formájában lévő NH_4^+ koncentráció-aránya:

$$\frac{[\text{NH}_4^+]}{[\text{NH}_3]} = \frac{K_b}{[\text{OH}^-]} = \frac{1,79 \cdot 10^{-5} \text{ M}}{10^{-5} \text{ M}} = 1,79$$

$$0,05 \text{ mmol} \rightarrow 1 \text{ ml} \Rightarrow n_{\text{NH}_3} = \frac{250 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} * 0,05 \text{ mmol} = 12,5 \text{ mmol}$$

$$\frac{[\text{NH}_4^+]}{[\text{NH}_3]} = \frac{\frac{n_{\text{NH}_4^+}}{V_{\text{oldat}}}}{\frac{n_{\text{NH}_3}}{V_{\text{oldat}}}} = \frac{n_{\text{NH}_4^+}}{n_{\text{NH}_3}} \Rightarrow n_{\text{NH}_4^+} = 1,79 * n_{\text{NH}_3} = 1,79 * 12,5 \text{ mmol} = 22,38 \text{ mmol}$$

$$M_{\text{NH}_4\text{Cl}} = 53,5 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}$$

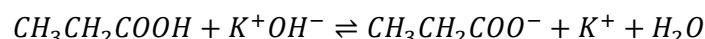
$$1 \text{ mmol} \rightarrow 53,5 \text{ mg} \Rightarrow m_{\text{NH}_4\text{Cl}} = \frac{22,38 \text{ mmol}}{1 \text{ mmol}} * 53,5 \text{ mg} = 1197 \text{ mg} = 1,197 \text{ g}$$

3. Példa

A propionsav disszociációs állandója $K_s = 1,343 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. 110,0 mg propionsavhoz hány ml 0,1 M-os kálium-hidroxid oldatot kell adnunk, ha a savat teljes egészében kálium-sóvá akarjuk átalakítani? Ha a só előállítása után tiszta vízzel a térfogatot 400 ml-re töltjük fel, mi lesz a pH értéke az így kapott oldatnak?

C: 12,0 H: 1,0 O: 16,0

A propionsav képlete: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$, móltömege 74 g/mol. A titrálás egyenlete:



$$M_{\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}} = 74 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \rightarrow n_{\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}} = \frac{110 \text{ mg}}{74 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}} = 1,486 \text{ mmol}$$

Az egyenletből következik, hogy a mérőoldatból 1,486 mmol KOH reagál a propionsavval teljes kálium-propionáttá való átalakítása során, tehát a hozzáadott KOH mérőoldat térfogata:

$$V_{\text{mérőoldat}} = \frac{n_{\text{KOH}}}{c_{\text{KOH}}} = \frac{1,486 \text{ mmol}}{0,1 \text{ M}} = 14,86 \text{ ml}$$

A propionát-ionok (bázis) az alábbi egyenlet szerint hidrolizálnak:

$$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + \text{OH}^-$$

$$K_b = \frac{[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}][\text{OH}^-]}{[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-]} = \frac{K_v}{K_s} = \frac{10^{-14} \text{ M}^2}{1,343 \cdot 10^{-5} \text{ M}} = 7,45 \cdot 10^{-10} \text{ M}$$

A propionát-ionok eredeti koncentrációja

$$\frac{1,486 \text{ mmol}}{400 \text{ ml}} = 0,003715 \text{ M}$$

$$\text{Egyensúlyi koncentráció: } \begin{array}{ccc} \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons & \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} & + \text{OH}^- \\ 0,003715 - x & x & x \end{array}$$

$$K_b = \frac{[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}][\text{OH}^-]}{[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-]} = \frac{(x^2) \text{ M}^2}{(0,003715 - x) \text{ M}} = 7,45 \cdot 10^{-10} \text{ M}$$

A fenti képletből egy másodfokú egyenletet kapunk, azonban a propionát gyenge bázis jellege miatt x értéke elhanyagolható az eredeti koncentrációhoz képest, azaz a nevezőből kiesik a $-x$ tag. Az egyenletet így megoldva:

$$x = [\text{OH}^-] = \sqrt{K_b \cdot [\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-]} = \sqrt{7,45 \cdot 10^{-10} \text{ M} \cdot 0,003715 \text{ M}} = 1,663 \cdot 10^{-6} \text{ M}$$

$$pOH = 5,78 \Rightarrow pH = \mathbf{8,22}$$

Megjegyzés: az elhanyagolás okozta hibát kiszámíthatjuk, ha megoldjuk a másodfokú egyenletet.

$$x^2 + 7,45 \cdot 10^{-10} x - 2,76 \cdot 10^{-12} = 0$$

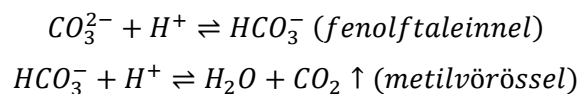
$x = [\text{OH}^-] = 1,663 \cdot 10^{-6} \text{ M} \Rightarrow pOH = 5,78 \Rightarrow pH = \underline{\underline{8,22}}$, tehát az elhanyagolás nem okozott jelentős hibát.

4. Példa

Nátrium-karbonátot és nátrium-hidrogénkarbonátot tartalmazó vizes oldatot elemzünk Warder módszerével. Sósav mérőoldattal először fenolftalein átcsapásáig ($p_i=9,2$) titrálunk, ekkor a karbonátból hidrogénkarbonát keletkezik. Ezután az előző oldatot tovább titráljuk metilvörös átcsapásáig ($p_i=5,1$). Az ismeretlen oldat 50,0 ml-ére az első lépésben 8,0, a második lépésben 11,5 ml 0,1 M-os $f=1,005$ faktorú sósav fogyott. Adja meg a nátrium-karbonát és a nátrium-hidrogénkarbonát koncentrációját g/l egységekben!

C: 12,0; H: 1,0; Na: 23,0; O: 16,0

A titrálás lépései:



Az első lépcsőben csak a nátrium-karbonátot titráljuk meg, míg a másodikban már a nátrium-hidrogénkarbonátot és a karbonátból származó hidrogénkarbonát-ionokat is.

Titrálás fenolftaleinnel:

$$c(\text{HCl}) = c_{\text{névleges}} \cdot f = 0,1\text{M} \cdot 1,005 = 0,1005\text{M}$$

$$n_1(\text{HCl}) = c(\text{HCl}) \cdot V_{1,\text{fogyás}} = 0,1005\text{M} \cdot 8,0\text{ml} = 0,804\text{mmol}$$

$$n(\text{Na}_2\text{CO}_3) = n_1(\text{HCl}) = 0,804\text{mmol} \Rightarrow c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = \frac{n(\text{Na}_2\text{CO}_3)}{V_{\text{minta}}} = \frac{0,804\text{mmol}}{50,0\text{ml}} = 0,01608\text{M}$$

1 liter oldatban 0,01608 mol Na_2CO_3

$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,01608\text{mol} \cdot 106\text{g/mol} = 1,704\text{g}$, azaz a mérendő oldat koncentrációja nátrium-karbonátra nézve 1,704g/l.

Titrálás metilvörössel:

$$n_2(\text{HCl}) = c(\text{HCl}) \cdot V_{2,\text{fogyás}} = 0,1005\text{M} \cdot 11,5\text{ml} = 1,156\text{mmol}$$

$$n(\text{NaHCO}_3) = n_2(\text{HCl}) - n_1(\text{HCl}) = 1,156\text{mmol} - 0,804\text{mmol} = 0,352\text{mmol}$$

$$c(\text{NaHCO}_3) = \frac{n(\text{NaHCO}_3)}{V_{\text{minta}}} = \frac{0,352\text{mmol}}{50,0\text{ml}} = 0,00704\text{M}$$

1 liter oldatban 0,00704 mol NaHCO_3

$m(\text{NaHCO}_3) = 0,00704\text{mol} \cdot 84\text{g/mol} = 0,591\text{g}$, azaz a mérendő oldat koncentrációja nátrium-hidrogénkarbonátra nézve 0,591g/l.

2.5.4. Ellenőrző kérdések

- 0,1 M sósav oldatot titrálunk, 1 M NaOH oldattal. Rajzolja fel a titrálási görbét, magyarázza meg a görbe alakját!
- Gyenge bázis vizes oldatát ($c = 0,01\text{M}$, $pK_b = 4$) titráljuk 0,2 M -os erős savval, a térfogatváltozás elhanyagolható. Rajzolja fel a rendszer logaritmikus egyensúlyi diagramját, és jelölje meg rajta - rövid indoklással - a titrálás egyenértékpontját! Rajzolja fel a titrálási görbét, és adjon hozzá rövid magyarázatot! Hol található az egyenértékpont?
- Egyértékű gyenge sav vizes oldatát titráljuk erős lúg mérőoldattal. Vázolja fel és értelmezze a titrálási görbét! Hogyan változik a görbe, ha az előzőnél nagyobb disszociáció állandójú savat titrálunk? (A mintaoldat, illetve a mérőoldat koncentrációi a két esetben megegyeznek.)
- Mi a feltétele annak, hogy egy gyenge sav vagy bázis mennyiségét sav-bázis titrálással meg tudjuk határozni? (Az oldat csak vízből és az adott savból vagy bázisból áll.)
- Mit értünk a sav-bázis indikátorok indikátorkitevőjén (indikátorexponensén)?
- Mit értünk a sav-bázis indikátorok átcsapási pontján és átcsapási tartományán? Összefüggnek-e ezek az indikátorexponenssel?
- Kálium-karbonát vizes oldatát titráljuk erős savval. Először azt állapítjuk meg, hogy mennyi mérőoldat fogyott a fenolftalein átcsapásáig, majd tovább titrálunk a metilvörös átcsapásáig. Mi a két lépésben fogyott mérőoldat térfogatok viszonya, és miért?

2.5.5. Gyakorló feladatok

- 350 ml 0,01 M -os erős lúgoldathoz 850 ml 0,005 M -os erős savoldatot adunk. A térfogatok összeadódnak. Számítsa ki a kapott oldat pH -ját! 3,23
- Hány ml pontosan 0,025 M -os nátrium-hidroxid oldatot kell adnunk 50,0 ml pontosan 0,01 M -os ecetsav oldathoz, hogy 5,5 pH értékű oldatot kapjunk? ($K_s = 1,753 \cdot 10^{-5}\text{M}$) 16,91 ml

3. Számítsa ki a $0,005\text{ M}$ koncentrációjú vizes etilamin oldat pH -ját! A etilamin bázisos disszociációs állandója $5,60 \cdot 10^{-4}\text{ M}$. 11,14
4. $50,0\text{ ml}$ $0,01\text{ M}$ -os ecetsav oldatot ($K_s = 1,753 \cdot 10^{-5}\text{ M}$) titrálunk $0,1\text{ M}$ -os erős lúg mérőoldattal. Mi lesz a pH értéke 85 %-os titráltsági foknál? 5,1
5. 150 ml $0,01\text{ M}$ -os vizes ammónia oldatot ($K_b = 1,79 \cdot 10^{-5}\text{ M}$) összekeverünk 30 ml $0,02\text{ M}$ -os vizes sósav oldattal. Mi lesz a pH értéke? 9,43
6. Egyértékű erős sav $0,005\text{ M}$ -os oldatát titráljuk $0,1\text{ M}$ -os erős bázissal. A végpontjelzéshez metilvörös indikátort használunk ($p_i = 5,2$). Számítsa ki a titrálás relatív hibáját! A térfogatváltozás elhanyagolható. -0,126 %

C: 12,0; Ca: 40,1; H: 1,0; O: 16,0

3. KOMPLEXOMETRIA

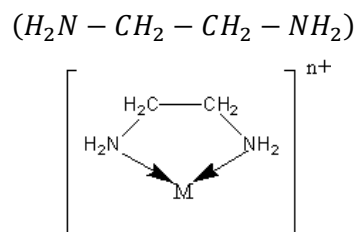
3.1. BEVEZETŐ

A komplexképzési reakciókat a titrimetriában fémek (M) meghatározásához használjuk. A komplexet szögletes zárójellel jelöljük []. Egy **központi atomhoz** (vagy ionhoz) **koordinatív (datív) kötése**ssel (elektronpárral) kapcsolódik egy vagy több **ligandum**.



3.1.1. Etilén-diamin

Kelát (gyűrűs komplex): olyan koordinációs komplex, ahol a ligandum többfogú, azaz ugyanahhoz a központi atomhoz több elektronpárral kapcsolódik ligandum. Ezek sokkal stabilabbak, mint az egyfogú ligandummal képzett komplexek.



3.1.1.1. ábra. Etilén-diamin (en)

3.1.2. Réz(II) akvakomplex reakciója

Egy példa arra, hogy miért jobb a kelátképzés, mint az egyfogú ligandummal képzett komplex, a Réz(II) akvakomplex reakcióinak összehasonlítása **en** és **ammónia** esetében:

Komplexstabilitási egyensúlyi állandó		ΔH	ΔS
etilén-diamin + Cu^{2+} (akvakomplex) \rightarrow kelát $2(en) + [Cu(H_2O)_6]^{2+} \rightleftharpoons [Cu(en)_2(H_2O)_2]^{2+} + 4H_2O$	$lg\beta = 19,6$	-102 kJ/mol \rightarrow <i>exoterm</i>	$+33 \text{ J/molK}$ \rightarrow <i>spontán</i> <i>megy végbe</i>
(3 mol \rightarrow 5 mol: nő a mólszám, ez a keláthatás/keláteffektus) \rightarrow nagy stabilitási állandó			
NH_3 + Cu^{2+} (akvakomplex) \rightarrow komplex egyfogú ligandummal $4NH_3 + [Cu(H_2O)_6]^{2+} \rightleftharpoons [Cu(NH_3)_4(H_2O)_2]^{2+} + 4H_2O$	$lg\beta = 13,0$	-99 kJ/mol \rightarrow <i>exoterm</i>	-83 J/molK \rightarrow <i>nem spontán</i>
5 mol \rightarrow 5 mol			

3.1.2.1. táblázat. Réz(II) akvakomplex reakcióinak összehasonlítása **en** és **ammónia** esetében

Keláteffektus

Ha a molekulák száma nő

\Rightarrow a molekuláris rendezetlenség (S: entrópia) is nő, azaz ΔS pozitív érték \Rightarrow a reakció spontán végbemegy.

A komplexstabilitási állandó az en esetében több, mint 6 nagyságrenddel nagyobb, sokkal stabilabb a létrejött komplex, azaz sokkal kisebb a disszociációja.

Az entalpiaváltozás (ΔH) alig tér el (hiszen a datív kötést hasonló kémiai állapotú nitrogénatomok létesítik).

3.2. KELATOMETRIÁS TITRÁLÁS

3.2.1. Mérőoldat: EDTA

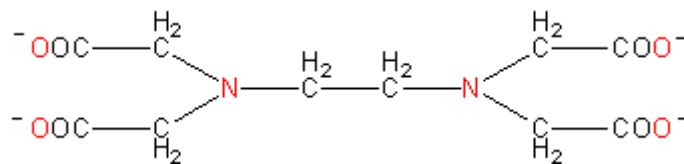
A **mérőoldat**: komplexképző ligandumokat tartalmazó oldat.

Leggyakoribb az EDTA (etiléndiamin-tetraacetát)

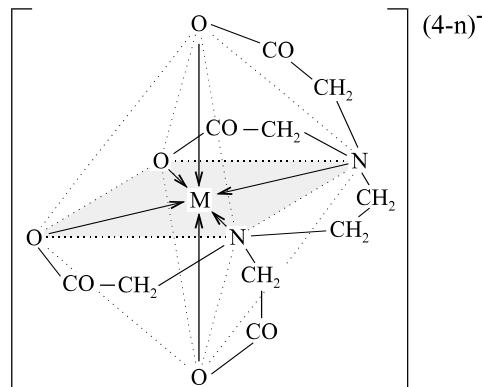
- Előforduló jelölései: Y; Y^{4-} ; EDTA és $EDTA^{4-}$.
 - Kristályos $Na_2H_2Y \cdot 2H_2O$ -ból készül, pontos beméréssel.

Segédmérőoldatai: Mg^{2+} vagy Zn^{2+} oldatok (általában szulfát anionnal).

Közvetlen titrálhatók: Pb^{2+} ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Cu^{2+} ... \rightarrow pH beállítása fontos.

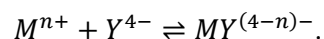


3.2.1.1. ábra. Az EDTA szerkezeti képlete
6 fogú ligandum (2 N és 4 O): igen stabil komplexeket képez



3.2.1.2. ábra. 1 EDTA általában 1 fémionnal képez kelátkomplexet.
A komplexek oktaéderez szerkezetűek
(a donor O és N atomok az oktaéder csúcsain,
a fémion a középpontban foglal helyet)

3.2.2. Egyensúlyi viszonyok



Ahol: M^{n+} : mérendő fémion (központi atom),

Y^{4-} : EDTA kelátképző,

$[MY]^{(4-n)-}$: keletkezett kelátkomplex (ahol $n \geq 2$ legalább), egyszerűbben: $[MY]$.

Komplexstabilitási (vagy stabilitási) állandó

A komplexképzési reakcióra felírt egyensúlyi állandó.

$$K_{st} = \frac{[MY^{(4-n)-}]}{[M^{n+}][Y^{4-}]}$$

	Fe ³⁺	Cu ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
lgK _{st}	21,5	18,8	10,7	8,7

3.2.2.1. táblázat. Néhány fémion EDTA-kelátjának stabilitási állandója

Látszólagos komplexstabilitási (vagy stabilitási) állandó

Az egyensúlyi viszonyok leírásához figyelembe kell vennünk, hogy az oldatban a fém és a komplexképző nemcsak szabad fémion (pontosabban akvakomplex), illetve Y⁴⁻ formájában fordulhat elő, hanem:

fémion formái:	akvakomplex, MY, ML (más ligandummal)
EDTA formái:	Y ⁴⁻ ; és protonált formák: HY ³⁻ ; H ₂ Y ²⁻ ; H ₃ Y ⁻ ; H ₄ Y

3.2.2.2. táblázat. A fém és a komplexképző formái az oldatban

Mivel a fémion csak az Y⁴⁻ formával alkothat komplexet, így számolnunk kell a korrekcióval a mennyiségi analízis során. Ennek eszköze a látszólagos komplexstabilitási állandó:

$$K_{st}' = \frac{[MY]}{[M'][Y']} = \frac{[MY]}{\alpha_L[M]\alpha_H[Y]}$$

Ahol: [M'] – benne van minden fém, ami nem [MY] formában van jelen,
 [Y'] – benne van minden EDTA (beleértve a protonált formákat), ami nem [MY],
 α_L – ligandum miatti korrekciós tényező,
 α_H – H-ek miatti korrekciós tényező.

$$\alpha_H = \frac{[Y']}{[Y^{4-}]} = \frac{[Y^{4-}] + [HY^{3-}] + [H_2Y^{2-}] + [H_3Y^{-}] + [H_4Y]}{[Y^{4-}]}$$

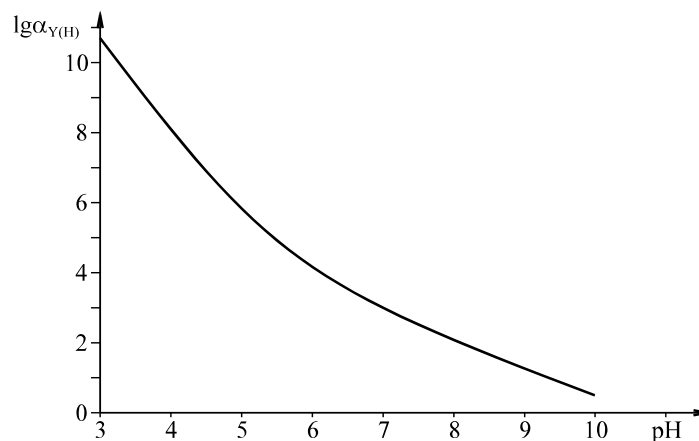
Ebből következik:

$$[M'] > [M],$$

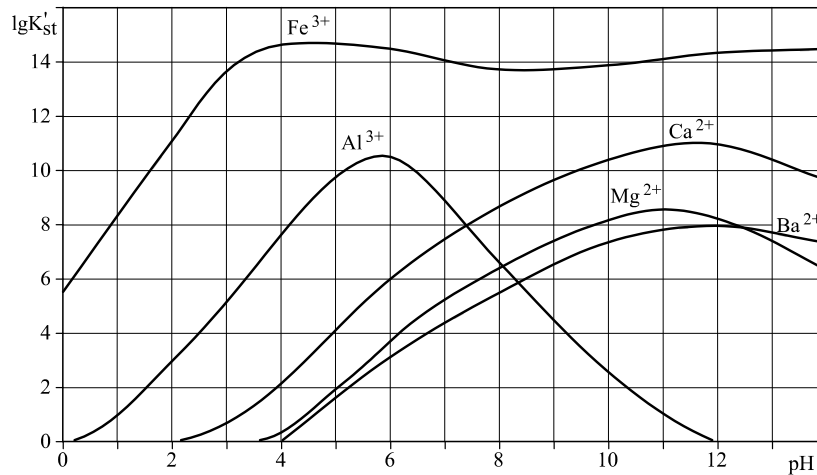
$$[Y'] > [Y^{4-}].$$

3.2.3. A pH változásának jelentősége

Savasabb pH-n a protonált formák mennyisége nagyobb. Az előbbi egyenlet számlálója nő, vagyis α_H is növekszik.

3.2.3.1. ábra. A lgα_H változása a pH függvényében

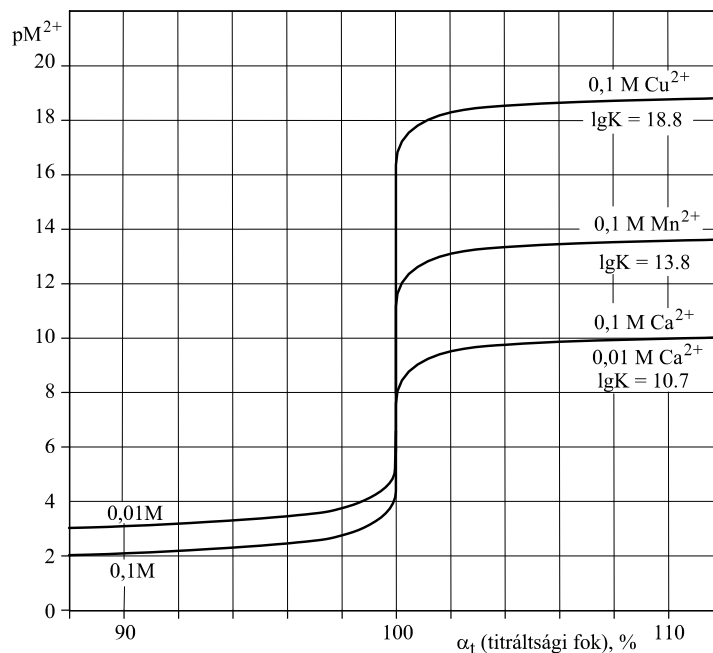
A pH beállítása (pufferek segítségével) azért is fontos, mert a látszólagos komplexstabilitási állandó (K'_{st}) értéke így jelentősen függ a pH-tól.



3.2.3.2. ábra. Néhány fémion lgK'_{st} értéke a pH függvényében

A kalcium és az alumínium görbéi a $Ca(OH)_2$ és az $[Al(OH)_4]^-$ miatt hajlanak vissza, mert adott pH érték fölött már az OH^- -ionok is megjelennek mint ligandumok, így komplexeikkel is számolnunk kell.

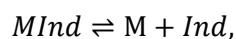
3.2.4. Komplexometriás titrálási görbe



3.2.4.1. ábra. Különböző fémiontartalmú oldatok titrálása EDTA-val (titrálási görbék)

A koncentráció csökkenésével a függőleges szakasz hossza megrövidül (lásd a 2. Sav-bázis titrálások című fejezetet). De a jelentősebb rövidülést a komplexstabilitási állandó értéke határozza meg.

3.2.5. Végpontjelzés: kelatometriás indikátor = (kompleképző) fémindikátor



ahol: Ind a szabad indikátor,

MInd a fém indikátorral képzett komplex.

A *fémindikátor* kifejezés arra utal, hogy az indikátor a fémionokat jelzi; a kelatometriás indikátorok maguk is kelátképző szerves ligandumok.

Az indikátorok az alábbi jellemzőkkel rendelkeznek:

- MInd és Ind különböző színűek,
- MY stabilabb, mint MInd, tehát az EDTA kiszorítja az indikátort a komplexből,
- Indikátor a mérés elejétől a mintában van.

	Az oldatban jelenlévő formák		
$\alpha_t = 0$	M	+ MInd	(+ kevés Ind)
$\alpha_t < 1$	M	+ MInd	(+ kevés Ind) + MY
$\alpha_t < 1$ de közel 1 (átmeneti szín)		MInd	+ Ind + MY
$\alpha_t = 1$ (átcsapás)		Ind	+ MY

3.2.5.1. táblázat. A fém-, az EDTA- és az indikátor-oldatban lévő formái a titrálás különböző szakaszaiban

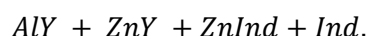
A fenti táblázatból kitűnik, hogy **teljes átcsapásra** azaz „színre” kell titrálunk!

3.2.6. Al^{3+} meghatározása

$[Al(H_2O)_6]^{3+}$ lassan bomlik, ezért közvetlenül nem mérhető titrálással, így visszatitrálással határozhatjuk meg.

1. Ismert mennyiségű fölös EDTA oldatot adunk hozzá, melegen, hogy segítsük a reakciót:
 $AlY + Y + Ind.$
2. Visszatitrálás: fölösleg titrálása Zn^{2+} segédmérőoldattal:
 $AlY + ZnY + Ind,$

eép: éppen az átmeneti szín előtt,



3.2.7. Több fémion egymás melletti titrálása

Van M_1 és M_2 fémünk.

Figyelembe véve, hogy a klasszikus analitikában a megengedett hiba 0,1%.

- Az M_1 fémnek 99,9%-ban komplexben kell lennie, mielőtt a második fém elkezdene komplexet képezni.

$$K_{st'1} = \frac{[M_1Y]}{[M_1][Y']} = \frac{0,999}{0,001[Y']} \approx 10^3 \frac{1}{[Y']}.$$

- Ekkor az M_2 -nek maximum 0,1%-a lehet komplexben.

$$K_{st'2} = \frac{[M_2Y]}{[M_2'] [Y']} = \frac{0,001}{0,999 [Y']} \approx 10^{-3} \frac{1}{[Y']}$$

Tehát a látszólagos stabilitási állandók viszonya legyen:

$$\frac{K_{st'1}}{K_{st'2}} \geq 10^6,$$

ahhoz, hogy két fémion egymás mellett meghatározható legyen.

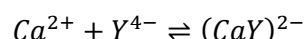
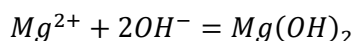
3.2.8. Példa: kalcium és magnézium meghatározása egymás mellett

A mérés leírása

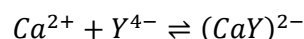
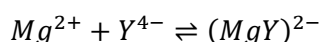
A fémionok mennyiségét EDTA mérőoldat segítségével tudjuk meghatározni. Ha az oldatban egyszerre jelen van kalcium és magnézium ion is akkor kétlépésben tudjuk elvégezni a mérést.

A titrálás reakcióegyenletei:

- $pH = 12$ esetén a magnézium rosszul oldódó csapadék formájában kiválik, így az oldatban csak a Ca^{2+} ionok vannak jelen és csak ezekre fogy EDTA.



- $pH=10$ esetén mindkét fém oldatban van, így az EDTA mérőoldat mindkettőre fogy, a két mennyiség összegét méri.



Használt vegyszerek:

- Ca^{2+} és Mg^{2+} tartalmú, ismeretlen koncentrációjú oldat
- $\sim 0,05 M$ -os faktorozott EDTA mérőoldat
- indikátor: Patton-Reader és eriokróm-fekete-T
- lúgosítás: 10%-os $NaOH$ oldat és 20%-os NH_3OH oldat

A titrálás lépései:

- Kimérünk a titrálólombikba $10,0 \text{ cm}^3$ minta oldatot
- Felhígítjuk kb. 50 cm^3 -re desztillált vízzel
- Hozzáadunk 5 cm^3 $NaOH$ -oldatot, így a $pH \sim 12$
- Hozzáadunk egy késhegynyi Patton-Reader indikátort, így rózsaszín lesz az oldat
- Megtitráljuk faktorozott EDTA mérőoldattal míg az indikátor égszínkék színe állandosul. Feljegyezzük a fogyást (V_1)
- Kimérünk a titrálólombikba újabb $10,0 \text{ cm}^3$ minta oldatot
- Felhígítjuk kb. 50 cm^3 -re desztillált vízzel
- Hozzáadunk $2,5 \text{ cm}^3$ NH_3OH -oldatot, így a $pH \sim 10$
- Hozzáadunk egy késhegynyi eriokróm-fekete-T indikátort, így ibolyásvörös lesz az oldat
- Megtitráljuk faktorozott EDTA mérőoldattal míg az indikátor kék színe állandosul. Feljegyezzük a fogyást (V_2)

A titrálás kiértékelése:

Ajánlott több párhuzamos mérést végezni, azokat külön-külön megtitralni, és a mért fogyások számtani közepét vegyük a figyelembe kiértékeléskor.

- Ha az EDTA mérőoldat pontos koncentrációja $c_{EDTA} \left[\frac{mmol}{ml} \right]$, és
- a mérőoldat elsőszakaszban mért fogyásainak átlaga $V_{1EDTA} [ml]$, akkor
- a Ca^{2+} -hoz és $n_{1EDTA} [mmol]$ -t adtunk hozzá a végpontig, azaz

$$n_{1EDTA} = c_{EDTA} \cdot V_{1EDTA}$$

1 mol EDTA 1mol fémmel alkot komplexet, így a mólarány 1:1, azaz

$$n_{1EDTA} = n_{Ca}$$

Tehát $n_{Ca} mmol$ volt 10 ml-ben (a hígítással nem adtunk hozzá mérendő anyagot), tehát a Ca^{2+} koncentrációja:

$$\frac{n_{Ca}}{10 ml} = c_{Ca}$$

- A mérőoldat második szakaszban mért fogyásainak átlaga $V_{2EDTA} [ml]$, akkor
- a Ca^{2+} -hoz és Mg^{2+} -hoz összesen $n_{2EDTA} [mmol]$ -t adtunk hozzá a végpontig, azaz

$$n_{2EDTA} = c_{EDTA} \cdot V_{2EDTA}$$

1 mol EDTA 1mol fémmel alkot komplexet, így a mólarány mindkét fémre 1:1, azaz

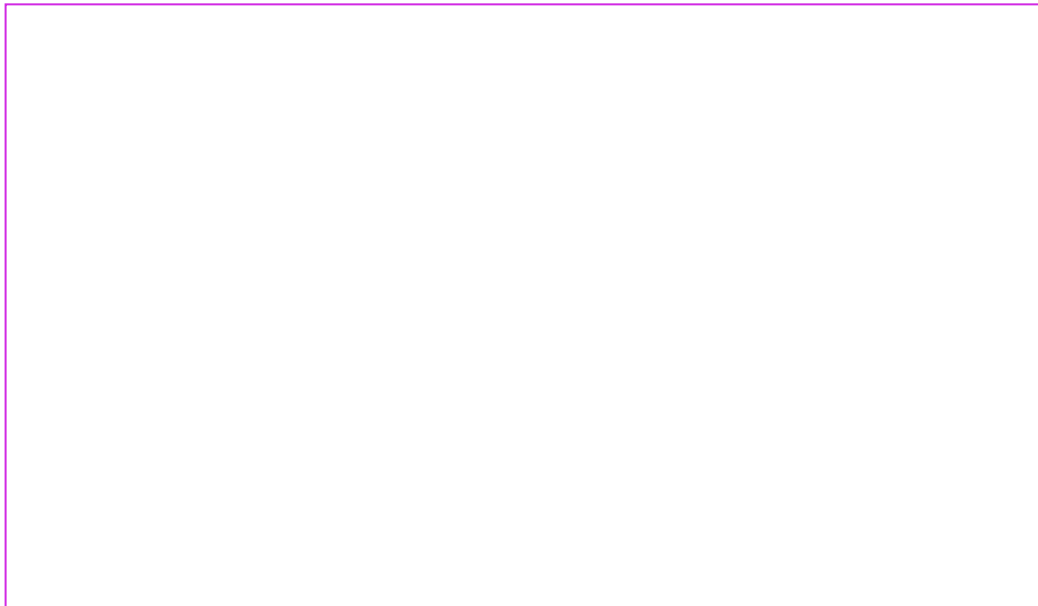
$$n_{2EDTA} = n_{Ca} + n_{Mg}$$

n_{Ca} az elsőszakasz adataiból már kiszámoltuk.

Tehát $n_{Mg} mmol$ volt 10 ml-ben (a hígítással nem adtunk hozzá mérendő anyagot), tehát a Mg^{2+} koncentrációja:

$$\frac{n_{Mg}}{10 ml} = c_{Mg}$$

VIDEÓ



3.2.8.1. videó. Kalcium és magnézium meghatározása kelatometriával

3.3. KÉRDÉSEK ÉS SZÁMOLÁSI FELADATOK

3.3.1. Ellenőrző kérdések

1. Mit értünk ligandumon, illetve keláton? Milyen anyagokat mérhetünk kelatometriásan, és hogyan működnek a kelatometriás indikátorok?
2. Milyen jellegű anyagok a kelatometriás titrálások indikátorai?
3. Milyen reagenst tartalmaz a kromatometriás mérőoldat (név, szerkezeti képlet), és ez hogyan reagál (egyenlet)? Milyen anyagok határozhatók meg vele?
4. Mik a kelátok? Írja fel a fém-EDTA kelátok (valóságos) stabilitási állandójának és látszólagos stabilitási állandójának kifejezését, és értelmezze az egyenletekben szereplő mennyiségeket!
5. Miért célszerű a látszólagos stabilitási állandót használni a kelatometriás titrálások egyensúlyainak leírásában?
6. Miért fontos a pH megfelelő beállítása a kelatometriás titrálásoknál?
7. Milyen anyagokat nevezünk Lewis-savaknak, illetve -bázisoknak? Értelmezhető-e a Lewis-elmélet szerint sav-bázis reakcióként a fém-EDTA komplexek képződése? (A választ indoklással kérjük.)

3.3.2. Gyakorló feladatok

1. Nikkel(II)-szulfát vizes oldatának koncentrációját kelatometriás titrálással mérjük. Az oldat 50,0 ml-es részletére 8,60 ml pontosan 0,01 M koncentrációjú EDTA mérőoldat fogy. Adja meg a nikkel-szulfát koncentrációját g/liter egységekben! 0,266 g/l
2. Alumínium-nitrát vizes oldatát elemezzük. Az oldat 200,0 ml-éhez (főlölegben) 20,0 ml 0,02 M-os EDTA oldatot adunk. Miután a reakció (forralás közben) lejátszódott, a lehűtött oldatban megtitráljuk a maradék EDTA-t 0,01 M-os cink-szulfát mérőoldattal. A mérőoldat fogyása 11,85 ml. Számítsa ki az alumínium-nitrát koncentrációját g/l egységekben! 0,3 g/l

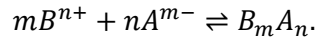
4. CSAPADÉKOS TITRÁLÁS

Csapadékképzésen alapuló klasszikus analitikai módszer, ahol a csapadék legyen:

- gyors reakció terméke és,
- rosszul oldódjon.

Az egyenértékpontot a csapadék oldhatósági szorzata szabja meg.

$B_m A_n$ összetételű csapadék esetén a reakció (a töltés kiegyenlítés miatt):



Az oldhatósági szorzat:

$$L_a = (A^{m-})^n (B^{n+})^m,$$

ahol a kerek zárójel az illető anyagfajta egyensúlyi aktivitását jelöli.

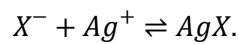
Az oldhatósági szorzat híg oldatokban:

$$L_a \approx L_{B_m A_n} = [A^{m-}]^n [B^{n+}]^m,$$

ahol az aktivitások helyett a koncentrációkkal (szögletes zárójel) számolunk.

4.1. ARGENTOMETRIA

4.1.1. Az argentometriás titrálás reakcióegyenlete általános formában



A mérőoldat:	$AgNO_3$	(ezüst-nitrát)
A segédmérőoldatok lehetnek:	NH_4SCN $KSCN$ KCl $NaCl$	(ammónium-rodanid) (kálium-rodanid) (kálium-klorid) (natrium-klorid)
Az analát lehet: X^-	halogenid: Cl^- ; Br^- ; I^-	(klorid) (bromid) (jodid)
	vagy pszeudohalogenid: CN^- ; SCN^-	(cianid) (tiocianát = rodanid)

4.1.1.1. táblázat. Argentometriás titrálás mérőadatai és vizsgálható analátjai

4.1.2. Az argentometriás titrálások mennyiségi leírása

Logaritmikus egyensúlyi diagram

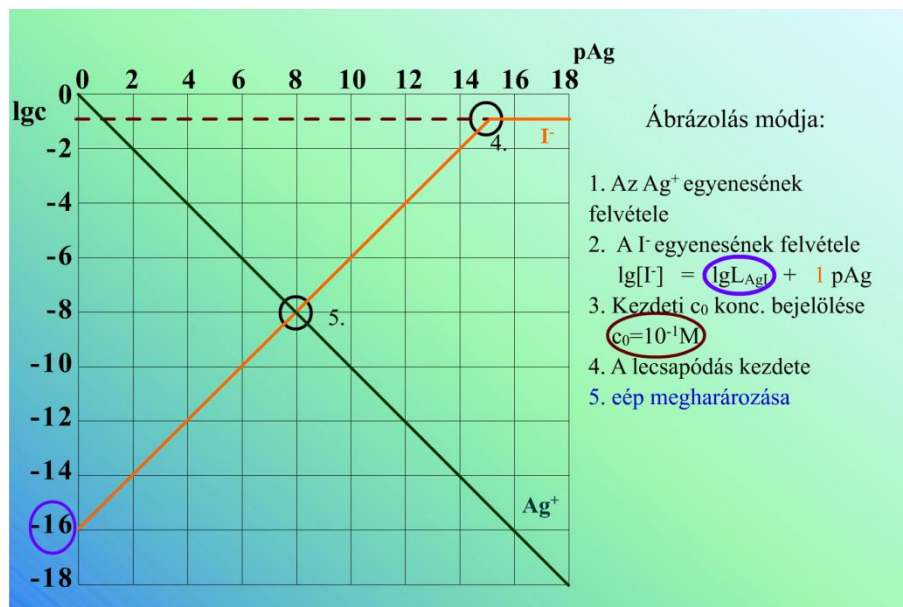
A csapadékképződés reakciója:	$I^- + Ag^+ \rightleftharpoons AgI$	
A csapadék oldhatósági szorzata:	$L_{AgI} = [Ag^+][I^-] \cong 10^{-16} M^2$	$\therefore [Ag^+]$
	$[I^-] = \frac{L_{AgI}}{[Ag^+]}$ $lg[I^-] = lgL_{AgI} - lg[Ag^+]$ $lg[I^-] = lgL_{AgI} + pAg$	$\therefore -lg[Ag^+] = pAg$

4.1.2.1. táblázat. A diagram egyenleteinek levezetése (a jodid példáján)

A 4.1.2.1. táblázat alapján kapott egyenletet ábrázoljuk a logaritmikus egyensúlyi diagramon.

Ahol az **y-tengely**: $lg[I^-]$ és $lg[Ag^+]$, azaz lgc ,
az **x-tengely** pedig: pAg .

Tehát a jodid esetében a **meredekség** 1 (a pAg együtthatója), a **tengelymetszet** $lgL_{AgI} = 16$.



4.1.2.1. ábra. Ezüst-halogenid csapadék logaritmikus egyensúlyi diagramja

A titrálás során az ezüst koncentrációja növekszik, vagyis a titrálás folyamata jobbról balra követhető a diagramon. Az oldatban lévő koncentrációkról az alábbiak mondhatók el:

Kiinduláskor:	$c_{I_0} = 10^{-1} M$
A csapadék leválásának kezdetekor, (ha $c_{I_0} = 10^{-1} M$):	$L_{AgI} = [Ag^+]10^{-1} M = 10^{-16} M^2$ azaz, ha $[Ag^+] = 10^{-15} M$
Az éép-ban (bármely c_{I_0} esetében):	$[Ag^+] = [I^-] = \sqrt{L_{AgI}} = 10^{-8} M$

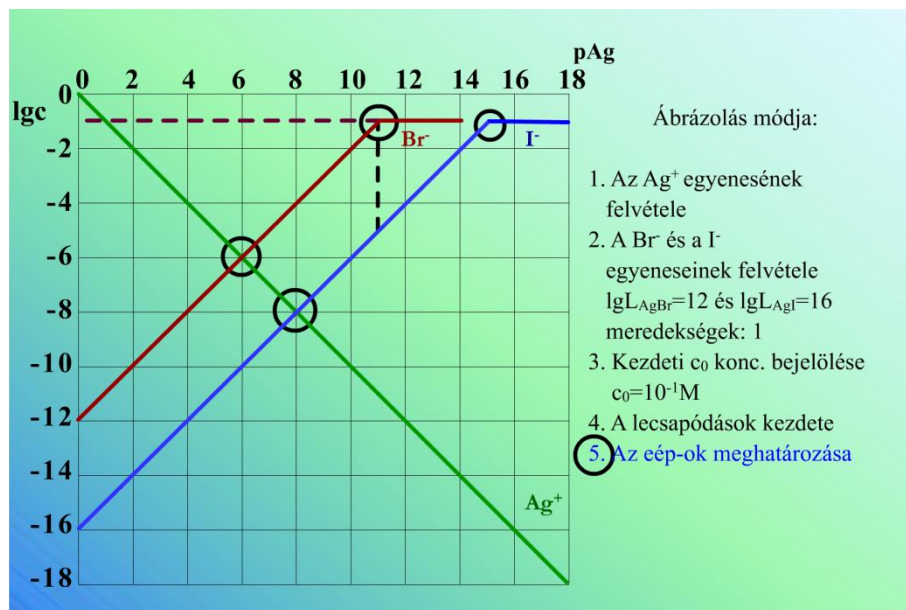
4.1.2.2. táblázat. Az ezüstion oldatbeli koncentrációjának változása a titrálás során

Két halogenid meghatározása egymás mellett

Az egymás mellett való titrálhatóság azt jelenti, hogy az első lépésben az oldhatatlanabb csapadékot képző iont (a jodidot) titráljuk, a második lépésben pedig a kevésbé oldhatatlan csapadékot képző iont (a bromidot). A 4.1.2.2. ábra látható, hogy az első lépésben nem titrálhatunk a jodid egyenértékpontjái, hiszen eddig már a bromid nagy része is leválna!

I^-	Br^-
$L_{AgI} \cong 10^{-16} M^2$	$L_{AgBr} \cong 10^{-12} M^2$
$lg[I^-] = lgL_{AgI} + pAg$	$lg[Br^-] = lgL_{AgBr} + pAg$

4.1.2.3. táblázat. A jodidion és a bromidion logaritmikus egyensúlyi diagramon ábrázolható egyenletei



4.1.2.2. ábra. Két ezüst-halogenid csapadék logaritmikus egyensúlyi diagramja

Akkor határozható meg a jodid a bromid mellett, ha az ezüstbromid csapadék megjelenésekor a jodid már a klasszikus analitikában elfogadott hibahatáron belül kivált.

$$\text{Relatív hiba} = \frac{\text{mért koncentráció} - \text{valóságos koncentráció}}{\text{valóságos koncentráció}} = \frac{- \text{oldatban maradt } I^-}{\text{eredeti } I^-}$$

Az $AgBr$ lecsapódásának kezdetéig csak AgI csapadék van, tehát alultitrálásnál figyeljük a végpontot, amely nem azonos az egyenértékponttal.

4.1.3. Az argentometriás titrálások végpontjelzése

Gay-Lussac módszer

Az egyenértékpontban a csapadék kolloid részecskéi összeállnak, a koagulált csapadék felett az oldat kitisztul. Ma már nincs gyakorlati jelentősége.

Mohr-módszer szerint (semleges vagy gyengén lúgos közegben)

A mérőoldat feleslege + indikátor → színes csapadékot képez.

- Mérhető: Cl^- ; Br^- .
- Indikátor: CrO_4^{2-} (kromát) csapadékképző.

Az indikátor az éép közelében válik le Ag_2CrO_4 formában, ha megfelelő a koncentrációja.



$$L_{Ag_2CrO_4} = [Ag^+]^2 [CrO_4^{2-}] = 10^{-12} M^3.$$

$$[CrO_4^{2-}] = \frac{L_{Ag_2CrO_4}}{[Ag^+]^2}.$$

$$lg[CrO_4^{2-}] = lgL_{Ag_2CrO_4} + 2pAg.$$

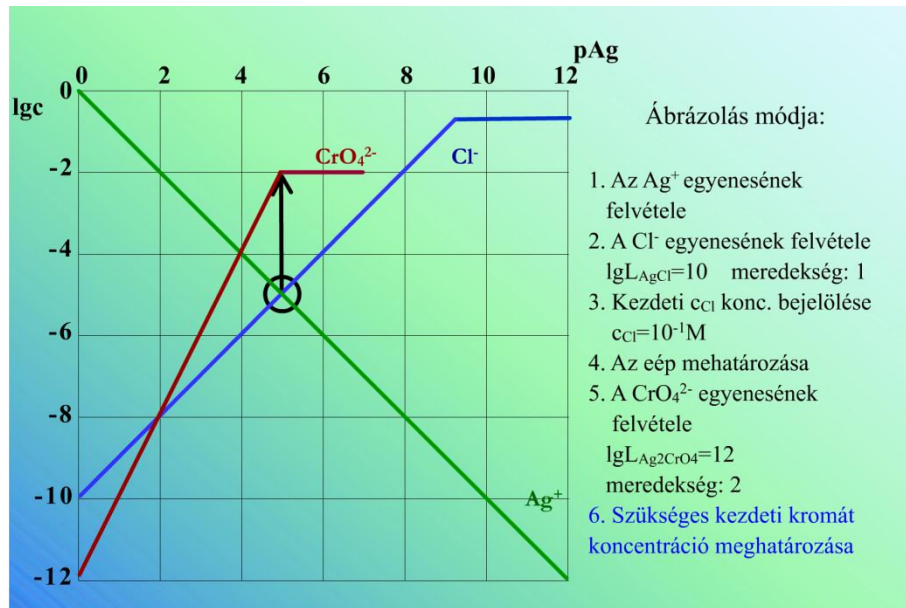
Tehát az egyenesének meredeksége: 2 (a pAg együtthatója),
a tengelymetszete: $lgL_{Ag_2CrO_4} = -12$.

Cl^-	CrO_4^{2-}
$L_{AgCl} \cong 10^{-10} M^2$	$L_{Ag_2CrO_4} = 10^{-12} M^3$
A titrálás éép-jában:	
$[Ag^+] = [Cl^-] = \sqrt{L_{AgCl}} = 10^{-5} M$	$[CrO_4^{2-}] = \frac{10^{-12} M^3}{(10^{-5} M)^2} = 10^{-2} M$
	Tehát legyen 0,01 M-os a kromát koncentráció

4.1.3.1. táblázat. A kromátindikátor megfelelő koncentrációja

A közeg semlegessége azért fontos, mert

- savas közegben: az Ag_2CrO_4 oldódik, dikromát képződése közben,
- erősebben lúgos közegben ($pH \geq 10$): ezüst-oxid-hidrát képződik.



4.1.3.1. ábra. Mohr-módszer szerinti argentometriás titrálás végpontjelzéséhez a csapadékok egyensúlyi diagramja

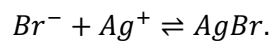
Volhard-módszer szerint (savas közegben, visszatitrálás)

A segédmérőoldat feleslege + indikátor \rightarrow élénk színű komplex.

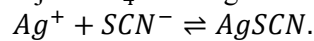
- Mérhető: Br^- ; I^- ; CN^- ; SCN^- .
- Segédmérőoldat: NH_4SCN .
- Indikátor: Fe^{3+} komplexképző.

Lépései:

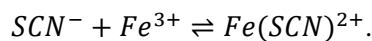
1. A mérendő oldathoz ismert mennyiségű feleslegben adjuk hozzá az AgNO_3 mérőoldatot, \rightarrow így AgBr csapadékot és Ag^+ felesleget kapunk.



2. Az így kapott oldatot visszatitráljuk NH_4SCN segédmérőoldattal.



Fe^{3+} indikátor és a segédmérőoldat feleslege **sötétvörös** oldható komplexet képez:



Nagy Fe^{3+} -koncentráció szükséges, mert

- a nagy Fe^{3+} -koncentráció ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ -oldat) eltolja az egyensúlyt a komplexképződés felé,
- ha a Fe^{3+} -koncentráció kicsi, akkor $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ disszociál, tehát csak nagy rodanidion felesleg esetén jelenik meg a komplex színe, ez jelentős mérőoldat túlfogyást eredményezhet.

Savas közeg szükséges, mert az akadályozza a Fe^{3+} hidrolízisét.

Fajans-módszer

Adszorpciós indikátorokkal

Halogenid ionok titrálása ezüst-nitráttal, fluorescein és eozin indikátor mellett: attól függően, hogy az egyenértékpont előtt vagy után vagyunk, az indikátor anionos formában, illetve ezüstionnal együtt adszorbeálódik a csapadék kristályainak felületén; a két forma színe eltér.

- Cl^- ; Br^- ; I^- ; SCN^- semleges közegben, fluoreszcein indikátor mellett.
- Br^- ; I^- ; SCN^- savanyú közegben, eozin indikátor mellett.

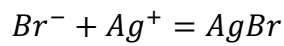
Használható adszorpciós indikátorként a paraetoxi-krizoidin (sav-bázis funkciója van) jodid meghatározásához $pH = 5$ környékén. Az egyenértékpont előtt I^- felesleg van, a csapadék felülete negatív töltésű, az indikátor protonálódik (savas forma), az egyenértékpont után a felület pozitív töltésűvé válik és deprotonálódás játszódik le (bázisos forma).

4.1.4. Példa: bromid meghatározása

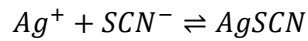
A mérés leírása

Az oldat bromid tartalmát Volhard-féle módszerrel határozzunk meg. A *mérőoldat* $AgNO_3$ (ezüst-nitrát-oldat) és a reckió termékeként ezüst-halogenid csapadék keletkezik.

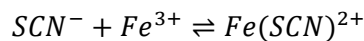
A titrálás reakcióegyenletei:



A mérőoldat feleslegét visszatitráljuk NH_4SCN segédmérőoldattal:



Fe^{3+} indikátor és a segédmérőoldat feleslege **sötétvörös** oldható komplexet képez



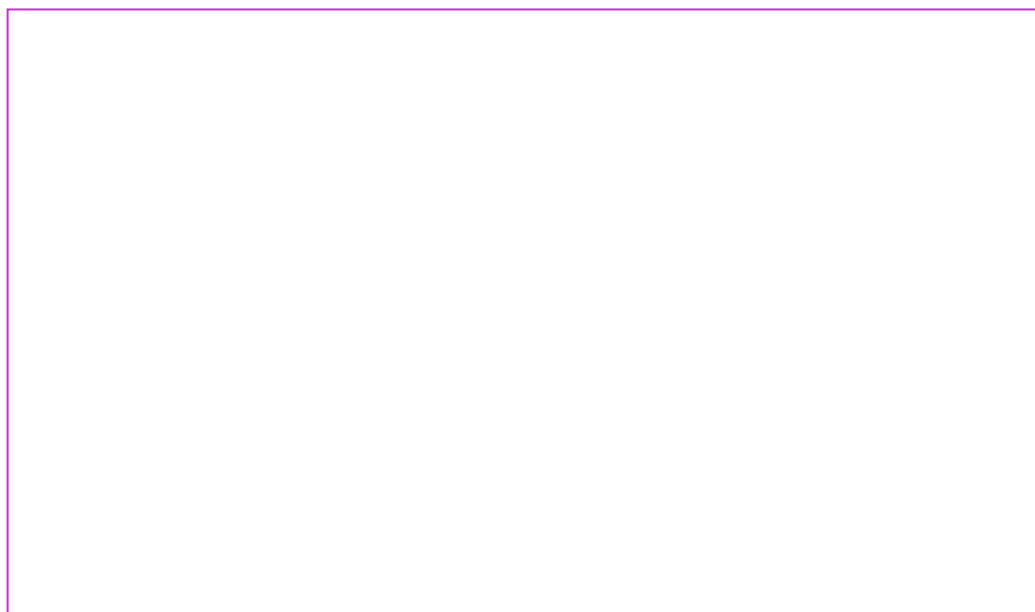
Használt vegyszerek:

- ismeretlen Br^- tartalmú oldat
- faktorozott $AgNO_3$ mérőoldat
- faktorozott NH_4SCN segédmérőoldat
- savanyításhoz: 10%-os salétromsav oldat
- indikátor: 10%-os Fe(III)-nitrát oldat

A titrálás lépései:

1. Kimérünk a titrálólombikba $10,0 \text{ cm}^3 Br^-$ oldatot
2. Hozzáadunk $20,0 \text{ cm}^3$ faktorozott $AgNO_3$ oldatot $\rightarrow \underline{AgBr}$ sárgás csapacég kiválik
3. Megsavanyítjuk 5 cm^3 salétromsav oldattal
4. Hozzáadunk 1 cm^3 Fe(III)-nitrát indikátort
5. Megtitráljuk faktorozott NH_4SCN segédmérőoldattal, a végpontot a $Fe(SCN)^{2+}$ komplex által okozott vörösödés jelzi

VIDEÓ



4.1.4.1. videó: Bromid mérése Volhard módszerével

4.2. KÉRDÉSEK ÉS SZÁMOLÁSI FELADATOK

4.2.1. Ellenőrző kérdések

1. Mi az argentometria?
2. Ismertessen egy, az argentometriában használatos kémiai végpontjelzési eljárást!
3. Ismertesse a halogenid ionok argentometriás meghatározásához használt Mohr-féle végpontjelzési módszert. Írja fel a reakcióegyenleteket is!
4. Hogyan mérhetjük a bromid koncentrációját savas közegben, Volhard módszerével? Írja fel a reakcióegyenleteket! Milyen indikátort használunk, és az hogy működik?
5. Bromid ionok meghatározásához mikor használhatjuk Mohr, illetve Volhard módszerét?
6. Klorid ionok 0,01 M-os oldatát titráljuk 0,1 M-os ezüst-nitrát mérőoldattal (a térfogatot tekintsük állandónak). Indikátorként kálium-kromátot használunk (Mohr-módszer). Rajzolja fel a titrálás logaritmikus egyensúlyi diagramját, és magyarázza el a diagram segítségével a végpontjelzést! Az ezüst-klorid oldhatósági szorzata kb. 10^{-10} M², az ezüst-kromáté pedig kb. 10^{-12} M³.
7. Ismertesse a klorid ionok argentometriás meghatározásának Mohr-féle végpontjelzését a rendszer logaritmikus egyensúlyi diagramja segítségével.
8. Vizes oldat bromidtartalmát mérjük ezüst-nitrát mérőoldattal. Rajzolja fel és értelmezze a rendszer logaritmikus egyensúlyi diagramját, ha a mérendő oldat bromidra nézve 0,01 M-os, és a térfogatváltozás elhanyagolható! Az ezüst-bromid oldhatósági szorzata kb. 10^{-12} M².
9. Vizes oldatban egymás mellett vannak jodid és tiocianát (rodanid) ionok, mindkettő kb. 0,01 M koncentrációban. Meghatározható-e egymás mellett az említett két ion? Ha igen, hogyan, ha nem, miért? A válaszhoz használja fel a rendszer logaritmikus egyensúlyi diagramját! A térfogatváltozás elhanyagolható! Az ezüst-jodid és az ezüst-tiocianát oldhatósági szorzata közelítőleg 10^{-16} illetve 10^{-10} M².
10. 0,01 M koncentrációjú bromid oldatot titrálunk 0,1 M-os ezüst-nitrát mérőoldattal (a térfogatváltozás elhanyagolható). Az ezüst-bromid oldhatósági szorzata kb. 10^{-12} M². Rajzolja fel a titrálás logaritmikus egyensúlyi diagramját, és jelölje rajta az egyenértékpontot! Hogyan változik az egyenértékpont helyzete, ha a mérendő bromid koncentráció nagyobb?

4.2.2. Gyakorló feladatok

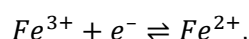
1. Hány mg ezüst-klorid oldódik 500 ml 0,005 M-os nátrium-klorid oldatban? Az ezüst-klorid oldhatósági szorzata $1,56 \cdot 10^{-10} \text{ M}^2$ 2,24 \cdot 10^{-3} \text{ mg}
2. 40,0 ml 0,040 M-os bromid oldatot titrálunk pontosan 0,1 M-os ezüst-nitrát mérőoldattal. Hány ml mérőoldat fogy, miközben a titráltság foka 99,0 %-ról 99,9 %-ra változik? 0,144 ml
3. Számítsa ki, hogy mennyi lehet a kalcium ionok maximális koncentrációja egy olyan vizes oldatban, melynek pH-ját erős lúggal 12,5-re állítottuk be! A kalcium-hidroxid oldhatósági szorzata: $3,1 \cdot 10^{-5} \text{ M}^3$ 3,1 \cdot 10^{-2} \text{ M}
4. Írja fel a vas(III)-szulfid oldhatósági szorzatának kifejezését, és adja meg az állandó mértékegységét! $L = (\text{Fe}^{3+})^2 \cdot (\text{S}^{2-})^3 \text{ M}^5$
5. Ezüst ionokat (eredeti koncentrációjuk 0,025 M) titrálunk 0,2 M-os ammónium-rodanid mérőoldattal. Mekkora lesz az ezüst ionok koncentrációja az egyenértékpontban és 1 %-os túltitráltságnál? Az ezüst-rodanid oldhatósági szorzata $4,9 \cdot 10^{-13} \text{ M}^2$. Az oldat térfogatát tekintjük állandónak. 7 \cdot 10^{-7} \text{ M}, 1,96 \cdot 10^{-9} \text{ M}
6. A kalcium-fluorid telített vizes oldata kalciumionokra nézve $2,145 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ -os. Számítsa ki a vegyület oldhatósági szorzatát! 3,948 \cdot 10^{-11} \text{ M}^3
7. A kalcium-fluorid oldhatósági szorzata szobahőmérsékleten $3,93 \cdot 10^{-11} \text{ M}^3$. Hány mólos a telített kalcium-fluorid oldat? 2,143 \cdot 10^{-4} \text{ M}
8. A magnézium-hidroxid oldhatósági szorzata $1,2 \cdot 10^{-11} \text{ M}^3$. Számítsa ki a magnézium-hidroxid telített vizes oldatának pH értékét! pH = 10,46
9. Hány g bárium-klorid oldódik 400 ml 0,004 M-os nátrium-szulfát oldatban. Az oldódás közben a térfogat nem változik, a bárium-szulfát oldhatósági szorzata $1,08 \cdot 10^{-10} \text{ M}^2$.
Ba: 137,3; Cl: 35,5 2,25 \cdot 10^{-6} \text{ g}
10. Hány mg ezüst-klorid oldódik 500 ml 0,005 M-os nátrium-klorid oldatban? Az ezüst-klorid oldhatósági szorzata $1,56 \cdot 10^{-10} \text{ M}^2$.
Ag: 107,9; Cl: 35,5; 2,24 \cdot 10^{-3} \text{ mg}
11. Egy 0,05 M koncentrációjú klorid oldatot titrálunk 0,5 M-os ezüst-nitrát mérőoldattal. Számítsa ki az ezüst ionok koncentrációját 5 %-os alul-, illetve túltitráltság esetén! Az oldat térfogatváltozása elhanyagolható.
Az ezüst-klorid oldhatósági szorzata $1,56 \cdot 10^{-10} \text{ M}^2$. 6,24 \cdot 10^{-8} \text{ M}, 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}
12. Bromid ionokat határozunk meg ezüst-nitrát mérőoldattal. Számítsa ki a klorid ionok oldhatóságát a bromid titrálásának egyenértékpontján ,mg/l egységekben! Az ezüst klorid oldhatósági szorzata $1,56 \cdot 10^{-10} \text{ M}^2$, az ezüst-bromidé $7,7 \cdot 10^{-13} \text{ M}^2$

5. REDOXI TITRÁLÁS

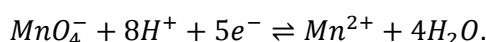
5.1. BEVEZETŐ

A térfogatos meghatározásokhoz használható redoxirendszerekben olyan anyagoknak kell lenniük, amelyeknek legalább két, vízben (vagy vizes oldatokban) oldható különböző oxidációs állapotuk van. Ilyen például a Fe^{3+}/Fe^{2+} , a $Cr_2O_7^{2-}/2Cr^{3+}$, a $I_2/2I^-$ vagy a kinon/hidrokinon rendszer. (Ritkábban szerves oldószeres közegben is végeznek redoxi titrálást, ld. 5.3.5 *Víz meghatározás*). A **titrálás közben két redoxirendszer lép kölcsönhatásba**.

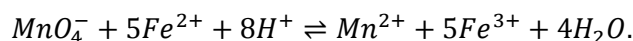
Ha pl. Fe^{2+} -ionokat permanganometriás módszerrel mérünk erősen savas közegben, a meghatározandó anyag redoxirendszere:



míg a mérőoldatban lévő reagensé



A titrálás közben a permanganátionok a Fe^{2+} -ionokat oxidálják:



Ahhoz, hogy egy ilyen redoxireakciót titrálásra használhassunk, az szükséges, hogy a két rendszer oxidáló, illetve redukáló képessége kellően eltérjen, vagyis elegendően nagy legyen standard redoxipotenciáljuk különbsége ahhoz, hogy a közöttük kialakuló egyensúly mennyiségileg a kívánt irányba tolódjon el. Az előbbi példában ez azt jelenti, hogy a folyamat balról jobbra gyakorlatilag teljesen végbemegy.

A közvetlen titrálás feltétele még, hogy a két redoxirendszer között az egyensúly igen gyorsan (pillanatszerűen) beálljon. Lassú redoxireakciók esetén visszatitrálással oldhatjuk meg a mérést.

5.1.1. Redoxi egyenletek rendezése

Szabályok egy redoxi egyenlet rendezésekor

- Az egyenlet két oldalán adott atomból azonos mennyiségű szerepel.
- Az elemek oxidációfoka mindig 0
- Az egyatomos ionok oxidációfoka mindig megegyezik a töltésszámukkal
- A molekulában az oxidációfokok összege mindig 0, az összetett ionokat alkotó atomok oxidációfokainak összege egyenlő az ion töltésszámával
- Az egyenlet két oldalán az előjeles töltésösszeg azonos.
- Az oxidálódó atomok összessége ugyanannyival lesz pozitívabb oxidációs számú, mint a redukálódó atomok negatívabbak.

A mindennapi szakmai nyelvben – és ebben a fejezetben is - az oxidációfokkal szinonim kifejezésként használjuk az oxidációs számot. Szabatosan az oxidációs szám jelentése: egy molekulán belüli azonos atomok átlagos oxidációfoka.

Általában:

- A hidrogén atom oxidációfoka: +1 (kivéve az elektropozitív fémek hidridjeit)
- Az oxigén atom oxidációfoka: -2 (kivéve a peroxidokat)

A vizes oldatokban lejátszódó redoxireakciók megfeleltethetők egy galváncellának, melynek anódján az oxidáció, katódján a redukció játszódik le. A galváncellában az oxidálódó és redukálódó rendszer elkülönül (félcellák), köztük a kapcsolatot vagy sóhíd vagy diafragma biztosítja. Ugyanígy a teljes redoxireakció is felbontható a két félcellának megfelelő félreakciókra. A félcellák reakcióegyenleteiben megjelennek az elektronok is.

Legfontosabb félcella egyenletek:

(oxidált forma + z e ⁻ ⇌ redukált forma)
$I_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2I^-$
$Ce^{4+} + e^- \rightleftharpoons Ce^{3+}$
$Zn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Zn$
$Cu^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cu$
$Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$
$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightleftharpoons Mn^{2+} + 4H_2O$
$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \rightleftharpoons MnO(OH)_2 + H_2O$
$MnO_4^- + e^- \rightleftharpoons MnO_4^{2-}$
$BrO_3^- + 6H^+ + 6e^- = Br^- + 3H_2O$
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$

Legfontosabb redoxi egyenletek:

$MnO_4^- + 5Fe^{2+} + 8H^+ \rightleftharpoons Mn^{2+} + 5Fe^{3+} + 4H_2O$
$5C_2O_4^{2-} + 2MnO_4^- + 16H^+ = 10CO_2 + 2Mn^{2+} + 8H_2O$
$\begin{matrix} -1 & +7 & & 0 & & +2 \\ 5H_2O_2 + 2MnO_4^- + 6H^+ = 5O_2 \uparrow + 2Mn^{2+} + 8H_2O \end{matrix}$
$5NO_2^- + 2MnO_4^- + 6H^+ = 5NO_3^- + 2Mn^{2+} + 3H_2O$
$PbO_2 + C_2O_4^{2-} + 4H^+ = Pb^{2+} + 2CO_2 + 2H_2O$
$IO_3^- + 5I^- + 6H^+ = 5I_2 + 3H_2O$
$I_2 + 2S_2O_3^{2-} = 2I^- + S_4O_6^{2-}$
$2Cu^{2+} + 4I^- = 2CuI + I_2$
$I^- + 3Cl_2 + 3H_2O = IO_3^- + 6Cl^- + 6H^+$
$SO_2 + I_2 + H_2O \rightleftharpoons SO_3 + 2H^+ + 2I^-$
$BrO_3^- + 5Br^- + 6H^+ = 3Br_2 + 3H_2O$
$3Br_2 + 6I^- = 3I_2 + 6Br^-$

Néhány fontosabb ion

Br_2 bróm	Br^- bromid	BrO_3^- bromát
I_2 jód	I^- jodid	IO_3^- jodát
		$Cr_2O_7^{2-}$ dikromát
$H_2C_2O_4$ oxálsav	$Na_2C_2O_4$ nátriumoxalát	$C_2O_4^{2-}$ oxalát
S^{2-} szulfid	SO_3^{2-} szulfit	SO_4^{2-} szulfát
	$S_2O_3^{2-}$ tioszulfát	$S_4O_6^{2-}$ tetracionát
	NO_2^- nitrit	NO_3^- nitrát
Mn^{2+} mangán(II)	MnO_4^{2-} manganát	MnO_4^- permanganát
		$MnO(OH)_2$ mangán(IV) – oxid – hidroxid
PbO_2 ólom(IV)oxid	H_2O_2 hidrogénperoxid	

5.1.2. A mérendő komponens, illetve a reagens típusa szerint

Oxidimetriás módszerek

A mérőoldat oxidálószer tartalmaz (permanganometria 5.2. fejezet, bromatometria 5.4. fejezet, kromatometria 5.6. fejezet, cerimetria 5.5. fejezet).

Az oxidimetriás mérőoldattal a redukáló tulajdonságú komponensek (mint az előbbi példában a Fe^{2+}) titrálhatók; oxidálószerrel redukáló tulajdonságú segédmérőoldat közbeiktatásával, visszatitrálással határozhatunk meg (5.2.3. fejezet).

Reduktometriás módszerek

A mérőoldat redukálószer tartalmaz. E módszereket lényegesen ritkábban használják, mint az oxidimetriát, mert a reagenseket a levegő oxigénje is oxidálja.

Mind oxidimetriás, mind reduktometriás módszerként alkalmazható a jodometria (5.3. fejezet).

5.1.3. Nernst-egyenlet redoxirendszerekre

A redoxirendszerek oxidáló, illetve redukáló képességét elektródpotenciáljukkal jellemezzük. Ez – mivel mind az oxidált, mind a redukált forma oldatban van, és koncentrációja változik – egy ún. redoxipotenciál, és a Nernst-Peters egyenlettel írható le:

$$E = E_{ox/red}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[oxidált\ forma\ aktivitása\ (koncentrációja)]}{[redukált\ forma\ aktivitása\ (koncentrációja)]}$$

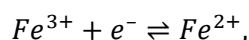
Ahol: E^0 : normálpotenciál,

R : egyetemes gázállandó ($8,314 \frac{J}{molK}$),

T : hőmérséklet (K),

z : töltés (e^- szám) változás,

F : Faraday-állandó (96486 C/mol).



(oxidált forma + $z e^- \rightleftharpoons$ redukált forma),

$$E = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} \quad (z = 1).$$

Formálpotenciál

A logaritmus mögött szereplő törtben a redoxirendszerben (félreakcióban) részt vevő valamennyi anyagfajta figyelembe kell venni a sztöchiometriai együtthatójának megfelelő hatványon, nem csak azokat, amelyek elektront adnak le vagy vesznek föl.

Az alábbiakban ezt a permanganát/mangán(II) rendszeren mutatjuk be. Az egyenletben a hidrogénionok koncentrációja is szerepel. Ez a folyamat elősen savas közegben megy végbe, és a hidrogénionok koncentrációjához képest a permanganát- és a mangán(II)-ionoké kicsiny, a hidrogénionok koncentrációját állandónak tekintjük. Így a pH hatása egy állandóban jelentkezik, melyet a normálpotenciálhoz adva kapjuk a formálpotenciált (E^0). A formálpotenciál használata a számításokban akkor indokolt, ha a reakcióegyben csak a redukálódó és oxidálódó komponensek koncentrációja változik.

$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- = \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$ $E = E_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8}{[\text{Mn}^{2+}]}$ $E = E_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}^0 + \frac{RT}{5F} \ln 10 * \lg \frac{[\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8}{[\text{Mn}^{2+}]}$
<p>Szobahőmérsékleten (T=22°C=295K)</p> $\frac{RT}{F} \ln 10 = 0,059\text{V}$ $E = E_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}^0 + \frac{0,059\text{V}}{5} (\lg \frac{[\text{MnO}_4^-]}{[\text{Mn}^{2+}]} + \lg[\text{H}^+]^8)$ $E = E_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}^0 + \frac{0,059\text{V}}{5} \lg \frac{[\text{MnO}_4^-]}{[\text{Mn}^{2+}]} + \frac{0,059\text{V}}{5} 8 * \lg[\text{H}^+]$ $E = E_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}^0 - \frac{0,059\text{V}}{5} 8 * \text{pH} + \frac{0,059\text{V}}{5} \lg \frac{[\text{MnO}_4^-]}{[\text{Mn}^{2+}]}$
$E = E_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}^{0'} + \frac{0,059\text{V}}{5} \lg \frac{[\text{MnO}_4^-]}{[\text{Mn}^{2+}]}$

5.1.3.1. táblázat. Az $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$ -rendszer formálpotenciáljának levezetése

Elektromotoros erő

Az elektródpotenciálok önmagukban nem mérhetők. Mért lehet viszont két elektródból összeállított galváncellák elektromotoros erejét, vagyis a két elektród közötti feszültséget egyensúlyi (tehát árammentes) állapotban. Ha a diffúziós potenciál elhanyagolható, az elektromotoros erő:

$$EME = E_{\text{katód}} - E_{\text{anód}},$$

ahol $E_{\text{katód}}$ és $E_{\text{anód}}$ a két elektród potenciálja.

Azt, hogy melyik elektród a katód, illetve az anód, a lejátszódó folyamat iránya dönti el. A galváncellát működésbe hozva **az anódon oxidáció játszódik le, a katódon redukció.**

Az **elektródpotenciál** megállapodás szerint egy olyan galváncella elektromotoros erejével egyenlő, melynek egyik pólusa a kérdéses elektród, másik pedig a normál hidrogén-elektrod. Ha a vizsgált elektród a normál hidrogénelektroddal szemben katódként viselkedik, az elektródpotenciál pozitív előjelű, ellenkező esetben negatív.

A redoxi elektród tulajdonképpen egy olyan félcella, amelyben a kérdéses redoxirendszert tartalmazó oldat van, és ebbe egy nemesfém (Pt, Au) elektród merül. A fém a kémiai reakcióban nem vesz részt,

szerepe csak az elektronok felvétele, illetve leadása. Az ilyen elektródok potenciálját szokták **redoxipotenciálnak** is nevezni.

A kiegyenlítődés folyamata

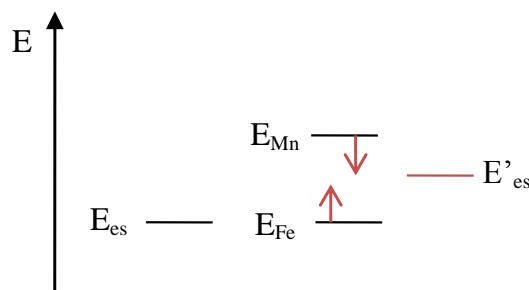
Az oxidálódó és a redukálódó rendszer ugyanabban az oldatban van jelen, és a reakcióelegyben a két félreakcióhoz tartozó potenciál a mérőoldat minden részletének hozzáadása után gyorsan kiegyenlítődik, közös értéket vesz föl (ez utóbbi azonban a titrálás előrehaladtával változik).

Például: $\alpha_t=50\%$.

$$[Fe^{3+}] = \frac{1}{2} c_{0Fe} = [Fe^{2+}] \quad E = E^0.$$

50% után hozzáadunk még MnO_4^- -ot	$+MnO_4^-$
↓	↓
A MnO_4^- koncentrációja nő.	$[MnO_4^-]$ nő
↓	↓
Nő a MnO_4^- potenciálja.	$\varepsilon_{MnO_4^-}$ nő
↓	↓
Megbomlik az egyensúly.	
↓	
Kompenzáció: Fe^{3+} koncentrációja nő, a Fe^{2+} koncentrációja csökken.	$[Fe^{3+}]$ nő
↓	↓
Nő a Fe^{3+} / Fe^{2+} rendszer potenciálja.	$\varepsilon_{Fe^{3+}}$ nő
↓	↓
Új egyensúly áll be magasabb potenciál értéken.	

5.1.3.2. táblázat. A Fe^{2+} permanganometriás meghatározás során a potenciál kiegyenlítődés folyamata 50%-os titráltságnál



5.1.3.1. ábra. A két redoxrendszer újabb és újabb (közös) egyensúlyi potenciál értékre áll be

$E_2 = E_1 = E_{\text{egyensúlyi}}$, ha beállt az egyensúly (a két redoxrendszer potenciálja kiegyenlítődött).

Egyensúlyi potenciálértékek a titrálás folyamata során

Az egyenértékpont előtt, mivel a permanganát/mangán(II) redoxrendszer standardpotenciálja (1,51 V) sokkal pozitívabb, mint a vas(III)/vas(II) rendszeré (0,77 V), a reakcióelegybe bevitt permanganát-ionok gyakorlatilag teljes mennyisége redukálódik, igen kevés marad a +7-es oxidációfokú formában. Jelentős a koncentrációja viszont mindkét vasionnak: van még az oldatban titrálatlan Fe^{2+} és a bevitt permanganáttal egyenértékű mennyiségben jött létre Fe^{3+} . Így itt a Fe^{3+}/Fe^{2+} rendszer potenciáljával számolhatunk.

Az egyenértékpont után – hasonló okok miatt – a permanganát-/mangánrendszer redoxipotenciálját célszerű fölírunk.

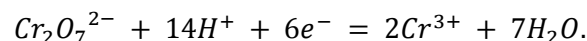
Az egyenértékponthoz a reagens redukciójában keletkezett Mn^{2+} -ionok mennyisége egyenértékű a Fe^{3+} -ionok mennyiségével.

Alutitráltság: $\alpha_t < 1$	$E_{es} = E_{Fe}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]}$ $\frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} = \frac{\text{titrált}}{\text{titrálatlan}} = \frac{\alpha_t}{1 - \alpha_t}$
Túlititráltság: $\alpha_t > 1$	$E = E_{Mn}^{0'} + \frac{RT}{5F} \ln \frac{[MnO_4^-]}{[Mn^{2+}]}$ $\frac{[MnO_4^-]}{[Mn^{2+}]} = \frac{\text{felesleg}}{\text{szükséges}} = \frac{\alpha_t - 1}{1}$
eép:	$E_{eép} = \frac{z_1 E_1^{0'} + z_2 E_2^{0'}}{z_1 + z_2}$

5.1.3.3. táblázat. Egyensúlyi potenciál értékek számítási módja a titrálás különböző fázisaiban. Ahol az 1 és 2 indexek egyike a titrált, másik a a titráló rendszerre vonatkozik

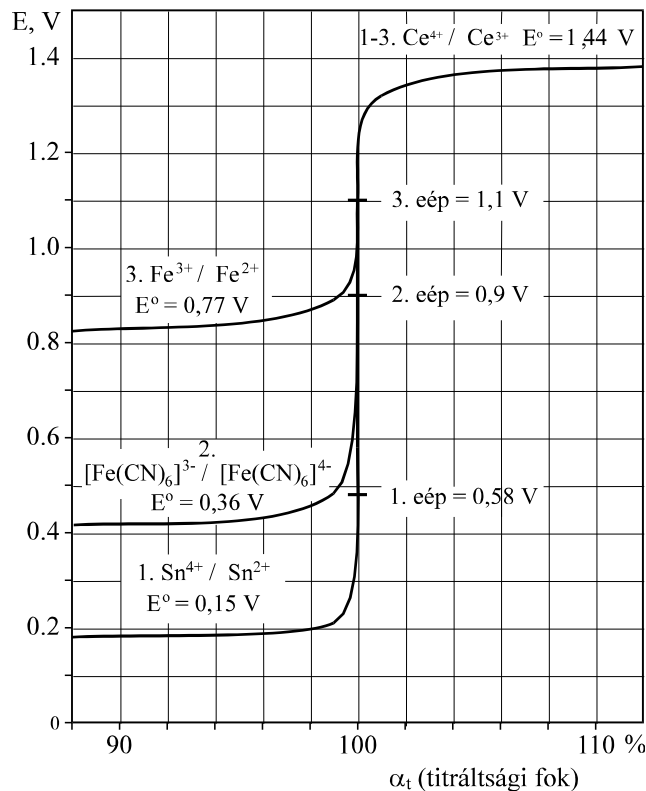
Ha valamelyik rendszer félreakciójában csak az elektront cserélő anyagfajták vesznek részt – mint példánkban a vas esetében – akkor a formálpotenciál és a normálpotenciál természetesen egyenlő.

Bonyolultabb, a koncentrációtól is függő megoldást kapunk $E_{eép}$ értékére, ha valamelyik félreakcióban az elektront cserélő komponens sztöchiometriai együtthatója a két oldalon nem azonos. Ilyen például a kromatometriás mérőoldat félreakciója (5.6-os fejezet).



5.1.4. Titrálási görbék

A redoxi titrálási görbék a redoxipotenciál változását ábrázolják a mérőoldat fogyása vagy a titráltság függvényében. Az egyenértékpont környezetében bekövetkező gyors potenciálváltozás annál nagyobb mértékű, minél távolabb esik a két rendszer normálpotenciálja. A görbék csak akkor szimmetrikusak az egyenértékponthoz, ha a titráló és a titrált rendszerben azonos az elektronszám-változás.



5.1.4.1. ábra. Különböző standard redoxipotenciálú rendszerek

5.2. PERMANGANOMETRIA

Redoxi titrálási módszercsalád, melyben

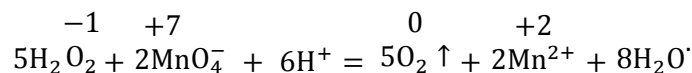
- a fő **mérőoldat** kálium-permanganátból,
- a leggyakrabban használt **segédmérőoldat** oxálsavból készül.

Erősen savas közegben:	$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightleftharpoons Mn^{2+} + 4H_2O$	$E^0 = 1,51 \text{ V}$
Gyengén savas, semleges közegben:	$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \rightleftharpoons \underline{MnO(OH)}_2 + H_2O$ barna csapadék	$E^0 = 1,69 \text{ V}$
Erősen lúgos közegben:	$MnO_4^- + e^- \rightleftharpoons MnO_4^{2-}$ (manganát)	$E^0 = 0,54 \text{ V}$

5.1.4.1. táblázat. $KMnO_4$ erős oxidálószer, a különböző közegekben másképpen reagál

Végpontjelzés: redukált forma (permanganát) lila színe állandósul.

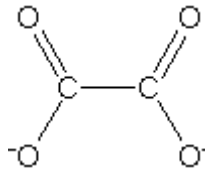
Példa savas közegben: közvetlen titrálás



5.2.1. $KMnO_4$ faktorozás

Mérőoldat:

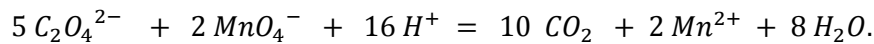
- nátrium oxalát $Na_2C_2O_4$: kristályos, stabil.
- oxálsav $H_2C_2O_4$ (bemérés: $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$): kristályos, stabil.



5.2.1.1. ábra. Oxalát szerkezeti képlete

Közeg: erősen savas.

Reakció:



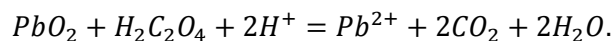
A reakciót a Mn^{2+} -ionok **katalizálják**:

- Első néhány csepp után: a MnO_4^- ibolya színe lassan tűnik el.
- Később felgyorsul a reakció, mert nagyobb a Mn^{2+} koncentráció (autokatalízis).

A titrálás elején melegítéssel segítjük a reakciót.

5.2.2. Oxidálószer meghatározás: (pl.: PbO_2)

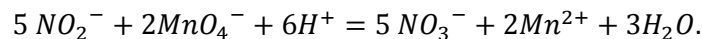
1. Ismert mennyiségű fölös oxálsav segédmérőoldatot hozzáadunk, redukáljuk a mérendő anyagot. Az ólom(IV)-oxid esetében ezt melegen végezzük.



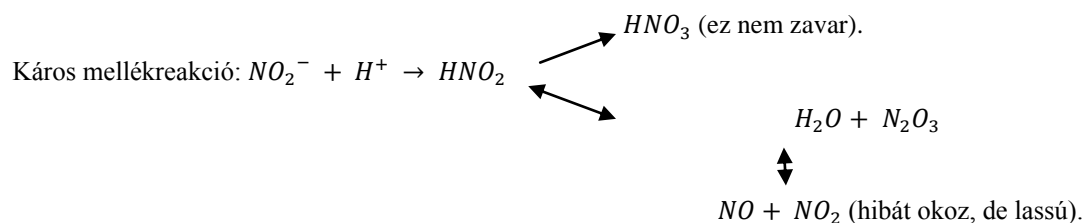
2. A redukálószer (oxálsav) fölöslegét visszatitráljuk MnO_4^- mérőoldattal.

5.2.3. Káros mellékreakciók esetén

Savas közegben közvetlenül nem titrálható például a NO_2^- .

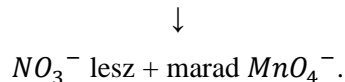


Ha előre rakjuk bele a savat a nitrit protonálódik:



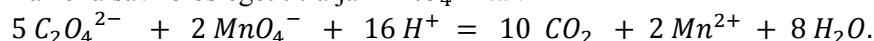
Megoldás: **kétszeres visszatitrálás.**

1. A mérendő nitrit oldatba ismert feleslegben permanganát oldatot adnak.
2. Kénsavval megsavanyítják, a nitrit gyorsan oxidálódik,



3. A fölös permanganát meghatározása (a lila szín megjelenése a végpontjelzés, igen megbízható a mérés, fordítva nem) visszatitrálással:

- a. ismert feleslegben oxálsavat adnak hozzá,
- b. az oxálsav fölöslegét titrálják MnO_4^- -tal.



Végpontjelzés: a lila szín megjelenése. Az oxálsav permanganáttal igen megbízhatóan titrálható, fordítva nem megy jól.

5.3. JODOMETRIA

A jodometriában leggyakrabban a nátrium-tioszulfát és a kálium-jodidos jód, valamint kálium-jodát mérőoldatokat használjuk.

A jodometria mind oxidáló, mind redukáló anyagok mérésére alkalmas. Az alapreakció:



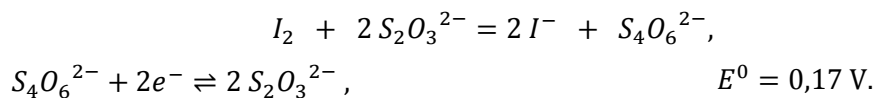
Jodidionok jelenlétében az



egyenlet szerint I_3^- anion képződik, és ez reagál:



A jódot tioszulfáttal pontosan és gyorsan lehet titrálni tetracionát ionok keletkezése közben:



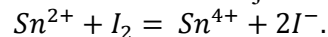
$Na_2S_2O_3 \cdot 2H_2O$ (tioszulfát mérőoldat), redukálószer.

$S_4O_6^{2-}$ (tertationát).

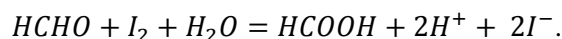
5.3.1. Oxidimetriás alkalmazás

A jód-/jodidrendszerrel kisebb redoxipotenciálú anyagok: az **elemi jódot** \rightarrow **jodiddá** redukálják.

- Ha a reakció gyors, akkor lehet közvetlenül KI -os jód mérőoldattal.



- Ha az analát illékony (H_2S), vagy lassú a reakció (formaldehid, ld. a következő egyenletet), jód felesleg kell, majd visszamérés tioszulfáttal:



Ez a folyamat lúgos közegben megy, így valójában a hipojodit (IO^-) ion oxidál. A tioszulfát mérőoldattal való visszatitrálás előtt a reakcióelegyet meg kell savanyítani.

5.3.2. Reduktometriás alkalmazás (oxidálószer mérésére)

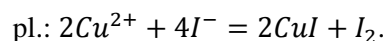
A jód-/jodidrendszerrel nagyobb redoxipotenciálú anyagok: a **jódot** \rightarrow **jóddá** oxidálják, és ezt titráljuk tioszulfáttal (közvetett titrálás).

Így mérhető a Cl_2 , Br_2 , ClO^- , BrO^- , IO^- , ClO_2^- , IO_3^- , BrO_3^- , Cu^{2+} , $Cr_2O_7^{2-}$.

A meghatározandó anyagból klorid, bromid, réz(I), króm(III), illetve jód keletkezik.

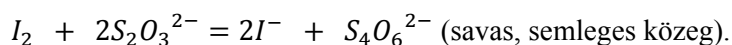
Érdekes példa a réz(II)-ionok meghatározása:

- Az oldathoz feleslegben adjuk a KI -ot

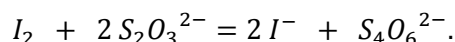
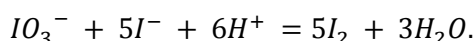


A réznek megfelelő mennyiségű I_2 keletkezik, az oldhatatlan réz(I)-jodid képződése eltolja a folyamatot a jód képződése irányába. (A Cu^{2+}/Cu^+ rendszer normálpotenciálja kisebb, mint a jód-/jodidrendszeré!)

2. A keletkezett I_2 titrálása $S_2O_3^{2-}$ mérőoldattal



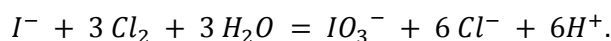
Nátrium-tioszulfát mérőoldat faktorozása



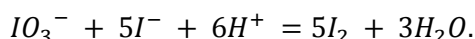
A KIO_3 vagy $KH(IO_3)_2$ segédmérőoldat pontos beméréssel elkészíthető. A nátrium-tioszulfát oldatot az első reakcióban előállított jóddal lehet faktorozni, míg a jód mérőoldat hatóértékét a nátrium-tioszulfát oldat segítségével állapíthatjuk meg.

5.3.3. Jodid ionok mérése

Winkler Lajos ún. sokszorozó eljárása szerint savanyú közegben klóros vízzel **+5 oxidációfokig** oxidálunk:



A klór feleslegét kiforraljuk, majd – fölös kálium-jodiddal reagáltatva a jodát – jódot szabadítunk föl, amely tioszulfáttal mérhető.



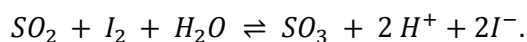
5.3.4. Végpontjelzés: keményítő

A jóddal a keményítő (poliszacharid) ún. klatrátot, zárványvegyületet képez, melynek színe **sötétkék**. A keményítőt **csak a végpont közelében adjuk az oldathoz**, elkerülendő, hogy a jód irreverzibilisen megkötődjön a keményítőben.

Töményebb oldatokban a jód saját színének megjelenése, illetve eltűnése is jelezheti a végpontot.

5.3.5. Víz meghatározása Karl Fischer módszerével

A mérés alapja, hogy a jód oxidálja a kén-dioxidot, és ez a reakció vizet fogyaszt. Így határozzák meg többek között szerves oldószerek víztartalmát. A reakció leegyszerűsítve:



Karl Fischer mérőoldattal titrálunk.	A mérőoldat kén-dioxidot (főlegesen), ismert mennyiségben jódot, valamint bázist (imidazolt vagy dietanolamint) és metanolt tartalmaz. Régebben piridint használtak bázisként.
A reakció egyensúlyi, ezért el kell tolni az egyensúlyt , illetve hogy a kén-trioxid ne reagáljon a vízzel.	A bázis a hidrogén-ionokat köti meg. A metanol a keletkező kén-trioxiddal képez metil-szulfátot.
A vizsgálandó anyagot vízmentes metanolban oldjuk .	

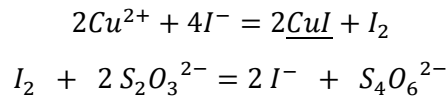
5.3.5.1. táblázat. Karl Fischer-víz meghatározás specifikációi

5.3.6. Példa: Réz(II) meghatározása

A mérés leírása

Az oldat réz(II) tartalmát jodometriásan határozzunk meg. Ez reduktometriás titrálás, hiszen a réz jodiddal rézjodid csapadékot és jódót hoz létre. A keletkezett jódot $Na_2S_2O_3$ (nátrium-tioszulfát) titráljuk keményítő indikátor mellett.

A titrálás reakcióegyenletei:



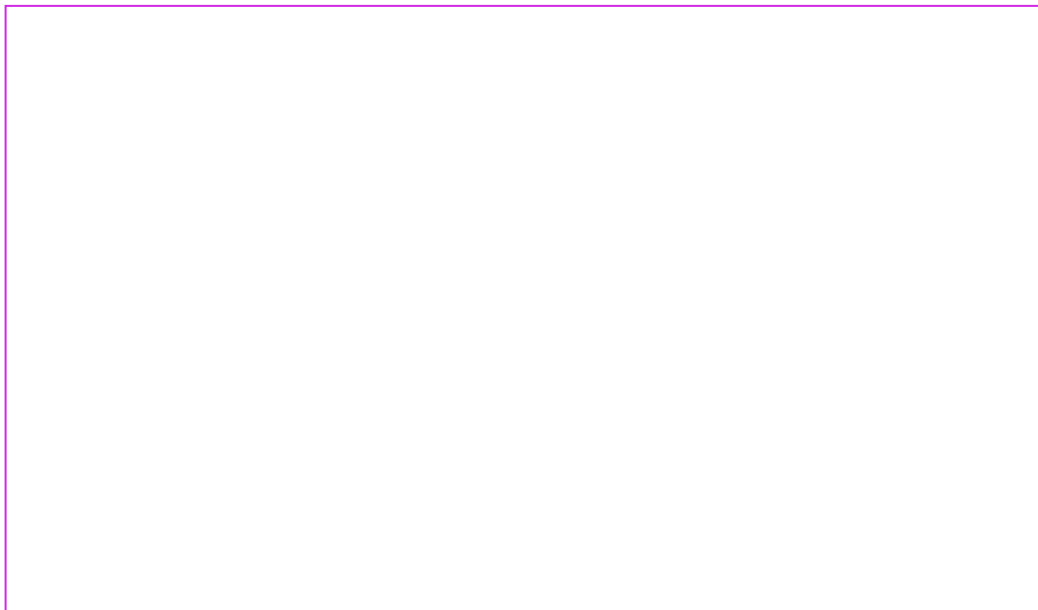
Használt vegyszerek:

- ismeretlen Cu^{2+} tartalmú oldat
- faktorozott $Na_2S_2O_3$ mérőoldat
- ~1 g szilárd KI
- savanyításhoz: 5%-os ecetsav oldat
- indikátor: keményítő

A titrálás lépései:

1. Kimérünk a dugós lombikba 10,0 cm^3 Cu^{2+} oldatot
2. Felhígítjuk kb. 50 cm^3 -re desztillált vízzel
3. Megsavanyítjuk 5 cm^3 ecetsav oldattal
4. Hozzáadunk ~1 g szilárd KI -ot, majd gyorsan bedugaszoljuk, mert a keletkezett I_2 illékony és elpárologása a titrálandó anyag mennyiségi csökkenését jelentené.
5. Titráljuk faktorozott $Na_2S_2O_3$ mérőoldattal, a végpont előtt, amit a halványsárga szín jelez
6. Hozzáadunk 5 cm^3 keményítő indikátort
7. Folytatjuk a titrálást a végpontig, ahol elfehéredik az oldat

VIDEÓ

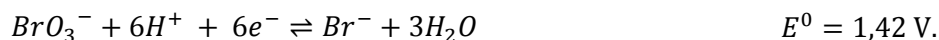


5.3.6.1. videó: Réz(II) jodometriás mérése

5.4. BROMATOMETRIA

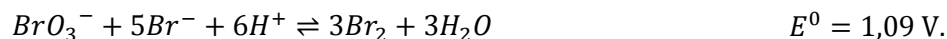
Redoxi titrálási módszercsalád, fő mérőoldata a kálium-bromát.

Savas közegben:



Gyakorlatban ha sok halogenidet tartalmazó közegben dolgozunk.

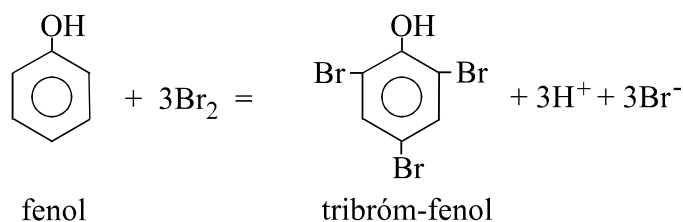
1. A titrálendő oldathoz feleslegben adjuk a KBr -ot.
2. Titrálás: KBrO_3 -tal \rightarrow keletkezik Br_2 és ezzel oxidálunk.



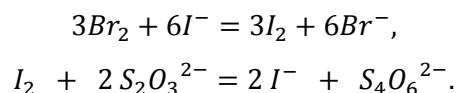
5.4.1. Fenol meghatározása: (Koppeschaar szerint)

Alapja: a bróm-szubtitúció. A bróm **szubsztitúciós reakciói** is alkalmasak analitikai célra. Néhány esetben a reakció olyan gyors, hogy KBr jelenlétében bromát mérőoldattal közvetlenül titrálhatunk. Gyakrabban fordul elő, hogy a szubsztitúció időreakció; ilyenkor visszatitrálást alkalmazunk.

A **Koppeschaar**-féle fenolmeghatározás alapreakciója tribrom-fenol előállítása fölös brómmal (a brómot ismert mennyiségben állítjuk elő a fenti reakcióval):



A bróm fölöslegét jodometriásan mérjük.

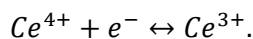


Hasonlóan határozhatók meg aromás aminok is.

5.5. CERIMETRIA

Cérium(IV)-ionokat tartalmazó mérőoldattal végzett redoxi titrálások csoportja.

Savas közegben a Ce(IV) redukálódik, a termék Ce(III) .

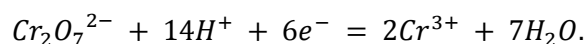


A rendszer potenciálját az alkalmazott sav minősége is befolyásolja a cériumionok erős komplexképző hajlama miatt.

5.6. KROMATOMETRIA

Kálium-dikromát mérőoldatot alkalmazó redoxi titrálási módszercsalád.

Erősen savas közegben:



5.7. KÉRDÉSEK ÉS SZÁMÍTÁSI FELADATOK

5.7.1. Ellenőrző kérdések

1. Mit értünk redoxi elektródon? Írja fel az elektródfolyamat reakcióegyenletét egy konkrét redoxi elektródra!
2. Mit értünk redoxipotenciálon, és milyen elektród segítségével mérhető ez?
3. Hogyan mérhetünk oxidálószerkeket permanganometrián? Ismertessen egy példát, írja fel a reakcióegyenleteket is! Hogyan jelezhetjük a titrálás végpontját?
4. Hogyan mérhetünk oxidálószerkeket jodometrián? Ismertessen egy példát, írja fel a reakcióegyenleteket is! Hogyan jelezhetjük a titrálás végpontját?
5. Hogy lehet egy szerves oldószer víztartalmát titrimetrián meghatározni? Írja le a módszer lépéseit, a titrálás és az indikálás reakcióegyenleteit!
6. Mire használjuk a térfogat analízisben a nátrium-tioszulfát mérőoldatot? Hogyan határozzuk meg a tioszulfát mérőoldat pontos koncentrációját ill. faktorát? Írja fel a reakcióegyenleteket is, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számát!
7. Nitrit ionokat mérünk permanganometrián, erősen savas közegben. Ismertesse a meghatározás menetét, rövid indoklással. Az egyes lépéseknél írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számát.
8. Hogyan reagál a permanganát-ion erősen savas, illetve gyengén savas vagy semleges közegben? Írja fel az erősen savas közegben érvényesülő redoxipotenciált a megfelelő anyagok koncentrációjának függvényében!
9. Ismertesse röviden a vízmeghatározás Karl Fischer szerinti módszerét! Röviden írja le a felhasznált anyagok funkcióját!
10. Milyen mérőoldatokat használnak a jodometriában? Szükség van-e az egyes mérőoldatok faktorozására, miért, és hogyan reagálnak ezek?
11. Nátrium-oxalát koncentrációját mérjük vizes oldatban, permanganometriás titrálással. Írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számát! Milyen kísérő anyagok okoznak interferenciát?
12. Mi a visszatitrálás, és mikor alkalmazzuk? Ismertessen egy visszatitrálásos mérést a redoxi titrálások köréből! Írja fel a reakcióegyenleteket (redoxi reakciók esetében az oxidációs számok feltüntetésével)! Hogyan jelezhetjük a végpontot az adott mérés esetén?
13. A fém alumínium erősen lúgos vízben tetrahydroxo-aluminát formájában oldódik. Írja fel a reakcióegyenletet, a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számának feltüntetésével! Az ólom(IV)-oxid az oxálsavat savanyú közegben széndioxidá oxidálja ólom(II)-ionok keletkezése közben. Írja fel a reakcióegyenletet!
14. Vas(II) ionokat határozunk meg cérium(IV)-szulfát mérőoldattal. Írja fel a reakcióegyenletet, és rajzolja fel a titrálási görbét! Hogyan mérhetnénk ki a titrálási görbe pontjait?
15. A bróm mennyiségét kell meghatározunk brómos vízből. Milyen jodometriás módszerrel végezhetjük ezt el? Írja fel a reakcióegyenlet(ek)et is!
16. A jodid ionok klóros vízzel jodáttá alakíthatók. Írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait is!
17. Milyen félreakció szerint redukálódik a bromát ion savanyú közegben?
18. Mit értünk elektromos potenciálon?
19. Galváncellában melyik elektród az anód, és melyik a katód?

5.7.2. Gyakorló feladatok

1. A bromát/bromid rendszer normálpotenciálja erősen savas közegben 1,42 V. Írja fel a félcella reakcióegyenletét! Mekkora lesz a formálpotenciál, ha a pH értéke 0,60?
(RT/F).ln10 = 0,059 V. 1,385 V
2. Számítsa ki a bromát/bromid rendszer formálpotenciálját a pH=0,5 értéken!
Eo(bromát/bromid) = 1,420 V; (RT/F).ln10 = 0,059 V 1,3905 V

3. Számítsa ki a permanganát/mangán(II) rendszer formálpotenciálját pH = 0 és pH = 0,3 értéken! A normálpotenciál 1,52 V.
(RT/F).ln10 = 0,059 V 1,52 V; 1,492 V
4. Számítsa ki a dikromát/króm(III) rendszer formálpotenciálját pH=0,4 és pH=1 értéken! A normálpotenciál 1,360 V.
(RT/F).ln10 = 0,059 V 1.305 V, 1.222 V
5. A mangán(II) ionokat semleges közegben permanganát ionokkal reagáltatva mangán(IV)-oxid-hidroxidot – MnO(OH)₂ – kapunk. Írja fel a reakcióegyenletet, megjelölve az oxidálódó és redukálódó atomok oxidációs számát!
 $2 \text{MnO}^{4-} + 3 \text{Mn}^{2+} + 7 \text{H}_2\text{O} = 5 \text{MnO(OH)}_2 + 4 \text{H}^+$
6. A vízben oldott kénhidrogén brómos vízzel kénsavvá oxidálható. Írja fel a reakcióegyenletet, megjelölve az oxidálódó és redukálódó atomok oxidációs számát!
 $\text{H}_2\text{S} + 4 \text{Br}_2 + 4 \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{SO}_4 + 8 \text{Br}^- + 8 \text{H}^+$
7. 0,01 M-os oxalát oldatot titrálunk pontosan 0,5 M-os kálium-permanganát mérőoldattal. Számítsa ki a redoxipotenciál értékét 0,5 %-os túltrátltság esetén! A pH értéke 0,25; a permanganát/mangán(II) rendszer normálpotenciálja 1,52 V.
(RT/F).ln10 = 0,059 V. 1,469 V
8. Kálium-permanganát mérőoldat névleges koncentrációja 0,02 M. A hatóérték megállapításához bemérünk 111,8 mg oxálsav-dihidrátot. ennek erősen megsavanyított oldatának megtitrálására 17,20 ml permanganát mérőoldat fogy. Írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait is! Számítsa ki a mérőoldat pontos koncentrációját és faktorát!
C: 12,0; H: 1,0; O: 16,0 0,021 M; 1,032
9. Fém rezes vízben kénsavban oldva réz(II)-szulfát és kén-dioxid keletkezik. Írja fel a reakcióegyenletet, megjelölve az oxidálódó és redukálódó atomok oxidációs számát.
10. Ólom(IV)-oxidból és ólom(II)-oxidból álló keveréket elemzünk. Bemérünk 1,2825 g keveréket, hozzáadunk 20,0 ml pontosan 0,1 M-os oxálsav mérőoldatot. Kénsavas savanyítás után melegre végezzük a reakciót. A megmaradt oxálsavat kálium-permanganát mérőoldattal (névleges koncentráció 0,02 M; f = 0,980) titráljuk vissza, fogy 14,25 ml. Írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve az oxidálódó és redukálódó atomok oxidációs számát! Hány tömeg % ólom(IV)-oxidot tartalmazott a keverék?
O: 16,0; Pb: 207,2 24,28%
11. Vizes hidrogén-peroxid oldat koncentrációját erős (kénsavas) savanyítás után permanganátos titrálással mérjük. Írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve az oxidálódó és redukálódó atomok oxidációs számát! 5,00 ml ismeretlen oldatot, melynek sűrűsége egyenlő a vízével, 100,0 ml-re hígítunk, ebből 10,0 ml-re fogy 14,0 ml, 0,02 M-os 1, 108 faktorú mérőoldat. Hány tömeg %-os az eredeti hidrogén-peroxid oldat?
H: 1,0; O: 16,0 5,27%
12. Fe²⁺ ionokat (eredeti koncentráció 0,02 M) titrálunk pontosan 0,1 M-os Ce⁴⁺ mérőoldattal. A titrálást potenciometriásan követjük, kalomel összehasonlító elektróddal, amelynek a potenciálja +285 mV. Mekkora az elektromotoros erő változása, miközben a titráltsági fok 95 %-ról 110 %-ra nő? A diffúziós potenciál elhanyagolható.
 $E_0(\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}) = 1,440 \text{ V}; E_0(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}) = 0,771 \text{ V}; (RT/F). \ln 10 = 0,059 \text{ V}$
0,535 V
13. Kálium-permanganát mérőoldat faktorozásához tiszta fém vasat használunk. Először 200,0 ml törzsoldatot készítünk 210,6 mg vasból kénsavas oldással, ekkor vas(II) ionok keletkeznek. A törzsoldat három, egyenként 50,0 ml-es részletét titráljuk 0,02 M névleges koncentrációjú permanganát mérőoldattal erősen savas közegben, a fogyás értékei 8,90; 9,02 és 8,93 ml. Írja fel a reakcióegyenleteket, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó komponensek oxidációs számát! Számítsa ki a mérőoldat pontos koncentrációját és a faktor értékét!
Fe: 55,8 0,0211 M; 1,054
14. Etanol víztartalmát mérjük. 2,508 g etanoltól vízmentes metanollal 100,0 ml törzsoldatot készítünk, ennek 10,0 ml-es részleteit titráljuk (a jódra nézve) 0,01 M-os Karl Fischer mérőoldattal. Három ismételt titrálásban 12,60; 12,58 és 12,65 ml mérőoldat fogyott. Írja fel a

titrálási reakciót és számítsa ki az etanol víztartalmát tömeg %-ban!

H: 1,0; O: 16,0

0,905 %

15. Nátrium-nitrit oldat koncentrációját határozzuk meg. Az oldat 50,0 ml-es részletéhez (főlegben) 20,0 ml 0,942 faktorú 0,02 M-os kálium-permanganát mérőoldatot adunk. A megmaradt permanganátot 10,0 ml pontosan 0,1 M-os oxálsav oldattal redukáljuk, az oxálsav főlegét pedig az előbbi permanganát mérőoldattal megtitráljuk; a fogyás 8,80 ml. Írjuk fel a reakcióegyenleteket és adjuk meg a nátrium-nitrit oldat koncentrációját M egységekben!
- 0,00713 M
16. Vizes hidrogén-peroxid oldat koncentrációját mérjük 0,5 M névleges koncentrációjú, $f=1,022$ faktorú kálium-permanganát mérőoldattal, erősen savas közegben. Az ismeretlen oldat három 20,0 ml-es részletét titráljuk, a mérőoldatból 15,08; 15,15 és 15,10 ml fogy. Adja meg a hidrogén-peroxid koncentrációját g/l egységekben!
- H: 1,0; O: 16,0
- 32,82 g/l
17. A bromát (BrO_3^-) ionok savas közegben bromiddá redukálhatók. Írja fel a félreakció egyenletét, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait! Számítsa ki a redoxi rendszer formálpotenciálját $\text{pH}=0,5$ értéken!
- $E_0(\text{bromát/bromid}) = 1,420 \text{ V}$; $(RT/F) \times \ln 10 = 0,059 \text{ V}$.
- 1,391 V
18. Egy oldat jodid koncentrációját Winkler Lajos módszerével mérjük. Az oldat 10,0 ml-éhez klóros vizet adva a jodidot jodáttá oxidáljuk, majd a klór főlegének kiforralása után a jodátot főlös kálium-jodiddal jóddá alakítjuk. Ez utóbbira 14,0 ml 0,1 M-os, $f=1,065$ faktorú nátrium-tioszulfát mérőoldatot fogy. Írja fel a reakcióegyenleteket! Mekkora az ismeretlen oldat jodid tartalma g/l egységekben?
- I: 126,9
- 3,15 g/l
19. Nátrium-tioszulfát mérőoldat (névleges koncentrációja 0,2 M) hatóértékének meghatározásához bemérünk 20,0 ml pontosan 0,02 M-os kálium-jodát mérőoldatot. Ebből főlös jodid hozzáadásával jódot állítunk elő. Az így kapott oldatot a tioszulfát mérőoldattal megtitrálva 11,45 ml fogy. Írja fel a reakcióegyenleteket a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számainak feltüntetésével! Számítsa ki a tioszulfát mérőoldat pontos koncentrációját és faktorát!
- 0,2096 M, 1,048
20. A dikromát ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) ionok erősen savas közegben króm(III) ionokká redukálhatók. Írja fel a félreakció egyenletét, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait! Számítsa ki a rendszer redoxipotenciálját, ha az oldatban a dikromát és a króm(III) koncentrációja egyaránt 0,05 M, a pH értéke pedig 0,4! A rendszer normálpotenciálja
- 1,36 V; $(RT/F) \cdot \ln 10 = 0,059 \text{ V}$.
- 1,349 V
21. Etanol víztartalmát mérjük. 2,115 g etanoból vízmentes metanollal 100,0 ml törzsoldatot készítünk, ennek 10,0 ml-es részleteit titráljuk a (jódra nézve) 0,01 M-os Karl Fischer mérőoldattal. Három ismételt titrálásban 12,10; 12,25 és 12,20 ml mérőoldat fogyott. Számítsa ki az etanol víztartalmát tömeg %-ban!
- H: 1,0; O: 16,0
22. Kénhidrogént mérünk vizes oldatban. Először a kénhidrogént brómos vízzel oxidáljuk, hidrogén-bromid és kénsav keletkezik. A főleges bróm kiforralása után a savakat 0,05 M-os, $f=1,022$ faktorú nátrium-hidroxid mérőoldattal megtitráljuk, a fogyás 8,25 ml. Írja fel az első lépés reakcióegyenletét, a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számának feltüntetésével! Számítsa ki a kénhidrogén mennyiségét (mmol) és a koncentrációját (M) az eredeti oldatban, ha a kiindulási mintatérfogat 10 ml volt!
- 0,042 mmol; 0,0042 M
23. Mennyi oxálsav-dihidrátot kell bemérni 2000 ml pontosan 0,2 M-os oxálsav mérőoldat elkészítéséhez?
- 50,4 g
24. Mennyi cérium(IV)-szulfát-tetrahidrátot kell bemérnünk 500 ml 0,05 M-os cérium(IV) mérőoldat elkészítéséhez?
- 10,1075 g
25. A bromát ionok savas közegben bromiddá redukálhatók, a rendszer normálpotenciálja 1,420 V. Írja fel a félreakció egyenletét, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait! Egy galvancia cella egyik elektródja kalomel összehasonlító elektród, amelynek a potenciálja +285 mV. A másik elektród egy Pt drót, amely egy olyan 0,5 pH-jú oldatba merül, melyben a bromát és a bromid ionok koncentrációja rendre 0,015 és 0,050 M. Mekkora az elektromotoros erő? A diffúziós potenciál elhanyagolható.
- $(RT/F) \cdot \ln 10 = 0,059 \text{ V}$
- EME = 1,101 V

26. Egy galvancia cella egyik elektródja kalomel összehasonlító elektród, amelynek a potenciálja +285 mV. A másik elektród egy Pt drót, amely egy olyan 0,8 pH-jú oldatba merül, melyben a dikromát ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) és a króm(III) ionok koncentrációja egyaránt 0,02 M.
Az utóbbi redoxirendszer normálpotenciálja 1,360 V. Írja fel a dikromát/króm(III) félreakció egyenletét, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait! Mekkora az elektromotoros erő? A diffúziós potenciál elhanyagolható.
(RT/F).ln10 = 0,059 V EME=0,982V
27. 0,1 M névleges koncentrációjú nátrium-tioszulfát mérőoldat hatóértékét határozzuk meg úgy, hogy 20,0 ml pontosan 0,01 M kálium-jodát oldatot mérünk be, fölös kálium-jodidot adunk hozzá, majd a keletkezett jódot megitráljuk. Erre 10,85 ml mérőoldat fogy. Írja fel a reakcióegyenleteket, és adja meg a mérőoldat faktorát! 0,1106 M; f = 1,106
28. Karl Fischer módszerével határozzuk meg n-butanol víztartalmát, három ismételt méréssel. Ehhez a butanolból 0,366; 0,382 és 0,325 g-ot mérünk be. A mérőoldat jódra nézve 0,05 M-os, ebből a három részletre (az előbbi sorrendben) 7,85; 8,15 és 7,05 ml fogy. Írja fel a titrálás egyszerűsített reakcióegyenletét, számítsa ki a n-butanol víztartalmát tömeg %-ban és a víz-butanol molarányt!
1,933 % és 0,081 mol víz/mol butanol
29. Ón (II) ionok mennyiségét mérjük 0,1 M-os cérium(IV)-szulfát mérőoldattal. A titrálást potenciometriásan követjük. A mérőelektród síma platina, a referencia kalomelelektrod, amelynek a potenciálja +285 mV. Mekkora az elektromotoros erő változása, miközben a titrálás foka 99,5 %-ról 100,5 %-ra nő? A Ce(IV)/Ce(III) rendszer formálpotenciálja az alkalmazott sósavas közegben 1,28 V, az ón(IV)/ón (II) normálpotenciál 0,15 V. A diffúziós potenciál elhanyagolható.
(RT/F).ln10 = 0,059 V 1,144-0,218 = 0,926 V
30. Számítsa ki a redoxipotenciálját annak a 0,5 pH-jú oldatnak, melyben a dikromát és a króm(III) ionok koncentrációja egyaránt 0,02 M. Az említett redoxirendszer normálpotenciálja 1,360 V. Írja fel a félcella reakcióegyenletét is, megjelölve az oxidálódó és redukálódó komponensek oxidációs számát!
(RT/F).ln10 = 0,059 V. 1,360-0,052 = 1,308 V
31. A hipoklorit/klorid rendszer normálpotenciálja lúgos közegben 0,890 V. Írja fel a félcella reakcióegyenletét, megjelölve az oxidálódó és redukálódó anyagok oxidációs számát és annak változását! A hipoklorit- és a klorid-ionok koncentrációja rendre 0,05 illetve 0,1 M. Számítsa ki a redoxipotenciál változását, ha a pH-t 13-ról 12-re csökkentjük!
(RT/F).ln10 = 0,059 V
Cu: 63,5; H: 1,0; N: 14,0; O: 16,0; S: 32,1 $\Delta E = 0,059 V$
32. Vas(II)-ionok 0,02 M-os vizes oldatát titráljuk 0,1 M-os cérium(IV)-szulfát mérőoldattal. Alul- vagy túltitrált-e az oldat, amikor a reakcióelegybe merített redoxielektrod potenciálja 1,05 V értékű? A választ indoklással kérjük.
 $E_0(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}) = 0,77 V$; $E_0'(\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}) = 1,44 V$; (RT/F).ln10 = 0,059 V
Eeép = 1,105 V. Mivel Eind < Eeép az oldat alultitrált
33. Kálium-permanganát mérőoldat névleges koncentrációja 0,02 M. A hatóérték megállapításához bemérünk 113,5 mg oxálsav-dihidrátot. Ennek erősen megsavanyított oldatának megitrálására 17,45 ml permanganát mérőoldat fogy. Írja fel a reakcióegyenletet, feltüntetve a redukálódó és oxidálódó atomok oxidációs számait is! Számítsa ki a mérőoldat pontos koncentrációját és faktorát!
c = 0,0206 M, f = 1,032

II. KLASSZIKUS ANALITIKA

B. GRAVIMETRIA

Tartalom

1.	Bevezető	84
1.1.	Gravimetriás mérésre példa	84
1.2.	Csapadékképző mérési módszerek összehasonlítása	86
1.3.	Kérdések és számítási feladatok	86

1. BEVEZETŐ

A klasszikus analízis egyik ága, melyben a mérendő komponensből oldhatatlan csapadékot állítunk elő, ezt szűréssel elválasztjuk, és mosás, szárítás vagy egyéb átalakítás után mérjük a tömegét. Ez utóbbiból számítjuk a komponens mennyiségét.

- **Tömegmérésen** alapul.
- A tömegszerinti elemzés lépései nem járhatnak anyagveszteséggel.

A tömegszerinti elemzés fő lépései és a velük szemben támasztott követelmények:

- 1. Mintaelőkészítés:** az általában híg mintaoldat előállítására. Az ehhez szükséges műveletek (oldás, esetleg feltárás vagy a zavaró komponensek előzetes elválasztása), **nem járhatnak anyagveszteséggel.**
- 2. A csapadék leválasztása.** A lecsapásnak **mennyiséginek (kvantitatívnak)** kell lennie. Mivel a **klasszikus analitikai eljárásokkal általában 0,1%-os nagyságrendű megbízhatóság érhető el**, ez azt jelenti, hogy a csapadéknak az alkotó legalább 99,9%-át kell tartalmaznia. Kívánatos, hogy a csapadék lehetőleg minél tisztább is legyen, bár bizonyos szennyezőket a következő lépésekben még el lehet távolítani.
- 3. A csapadék szűrése és mosása.** – Az anyagveszteség itt is elkerülendő.
- 4. Szárítás vagy hőkezelés** (esetleg egyéb átalakítás). Olyan végterméket kell előállítanunk, mely a mérendő alkotót **mennyiségileg tartalmazza, sztöchiometrikus összetételű és stabil.**
- 5. Tömegmérés, számítás.**

Mérendő komponens (ion) + reagens

↓

oldhatatlan csapadék

↓

elválasztás

↓

szilárd csapadék

↓

szárítás, hőkezelés

↓

mérési forma

↓

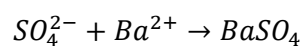
a mérendő komponens mennyiségének számítása

A mérési forma legyen:

- Stabil
- Tiszta
- Sztöchiometrikus összetételű
- Mennyiségileg tartalmazza a mérendőt! ($\pm 0,1$ % hiba lehet!)

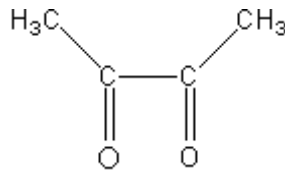
1.1. GRAVIMETRIÁS MÉRÉSRE PÉLDA

1.1.1. Példa: Bárium(II) mérése

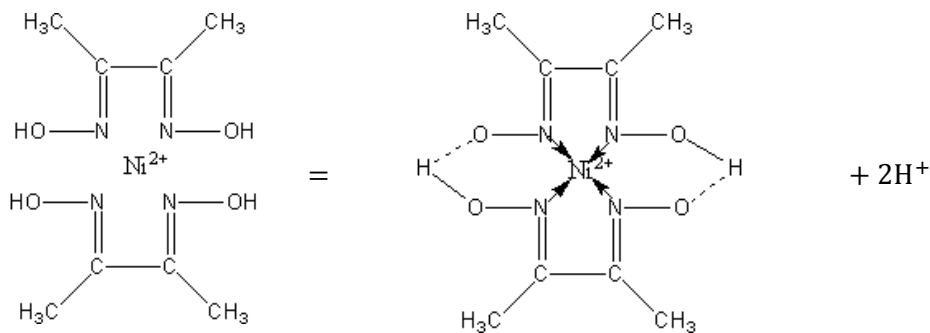


1.1.2. Példa: Ni^{2+} meghatározás dimetil-glioximmal

A dimetilglioxim (diacetyl-dioxim) Ni^{2+} és Pd^{2+} ionokkal ad jól mérhető csapadékot.



1.1.2.1. ábra. A diacetyl szerkezeti képlete



A mérés lépései:

1. Ni^{2+} gyengén savas törzsoldatból indulunk ki
2. Négyszeres fölöslegben, melegen hozzáöntjük a **reagens etanolos oldatát**
3. **Hagyuk hűlni**, egészen szobahőmérsékletig
4. **Semlegesítjük** vizes NH_3 oldattal, addig míg megérezzük az ammónia szagát
5. **Öregítés** következik, amikor a csapadék átkristályosodik, tömörödik, hagyjuk a leváló csapadék két órányit állni
6. Lemérjük az üvegszűrő tömegét üresen
7. **Szűrészük**, majd NH_3 -as vízzel **mosássuk** át
8. **Szárítássuk** ki
9. A keletkezett mérési formát az üvegszűrővel együtt lemérjük a szárítás után, kivonva az eredményből az üres szűrő tömegét, megkapjuk a keletkezett csapadék tömegét, amelyből viszaszámolhatunk az oldat koncentrációjára

Fontos, hogy az etanol aránya a reakcióelegyben megfelelő legyen, ha kevés, reagenskiválás, ha sok, a csapadék oldódása következik be. Ha a mérendő oldatban Fe^{3+} , Cr^{3+} vagy Al^{3+} zavaró ionok vannak, hatásukat tartarát vagy citrát komplexképzővel küszöbölhetjük ki.

1.2. CSAPADÉKKÉPZŐ MÉRÉSI MÓDSZEREK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Csapadékképzés	
Gravimetria: <ul style="list-style-type: none"> • a legtöbb ion meghatározására jó • feleslegben alkalmazható reagensek • lassú reakció mellett is alkalmazható • nem kell sztöchiometrikusnak lennie 	Csapadékos titrálás: <ul style="list-style-type: none"> • kevés ion meghatározására jó • gyors és sztöchiometrikus reakciónak kell lejátszódnia • nagyon oldhatatlan csapadéknak kell képződnie, mert reagens felesleget nem használhatunk
de: <ul style="list-style-type: none"> • nagy gyakorlatot igényel • időigényes eljárás 	de: <ul style="list-style-type: none"> • könnyen alkalmazható • gyors eljárás

1.1.2.1. táblázat. A klasszikus analitika két ága is a csapadékképzésen alapszik, a módszerek más-más előnyökkel rendelkeznek

A csapadékos titrálást könnyű alkalmazhatósága miatt jóval gyakrabban használják, mint a gravimetriát.

1.3. KÉRDÉSEK ÉS SZÁMÍTÁSI FELADATOK

1.3.1. Ellenőrző kérdések

1. A gravimetriában mit értünk mérési formán? Milyen követelményeknek kell megfelelnie a mérési formának?
2. Mit értünk a gravimetriában mennyiségi leválasztáson?
3. Sok fémiont lehet hidroxid formájában lecsapni. Ismertesse az erre alapozott gravimetriás eljárás fő lépéseit, rövid magyarázattal!
4. Sok fémiont képez oldhatatlan hidroxidot. Felhasználható-e ez a reakció a fémion gravimetriás meghatározására? Ha igen, hogyan, ha nem, miért?

1.3.2. Gyakorló feladatok

1. Egy oldat vastartalmát gravimetriásan mérjük. A vasat vas(III)-hidroxidként választjuk le, és izzítás után vas(III)-oxid formájában mérjük. 200,0 ml oldatból kiindulva 180,0 mg vas(III)-oxidot kapunk. Mi a vas oldatbeli koncentrációja g/liter egységekben?
Fe: 55,8; O: 16,0 0,63 g/l
2. Kalcium-klorid vizes oldatát gravimetriásan elemezzük. Az oldat 50,0 ml-éből a kalcium-ionokat főlőlegben alkalmazott oxalát reagenssel leválasztjuk, a mérési forma kalcium-oxalát-monohidrát. A mérendő oldat 50,0 ml-es részleteiből kiindulva átlagosan 212,7 mg kalcium-oxalát-monohidrátot kapunk. Adja meg a kalcium-klorid koncentrációját g/l egységekben!
C: 12,0; Ca: 40,1; H: 1,0; O: 16,0; Cl: 35,5 3,23 g/l

III. MŰSZERES ANALITIKA

A. ELEKROANALITIKA

Tartalom

1.	Bevezető	88
2.	Potenciometria.....	91
2.1.	Bevezetés.....	91
2.2.	Galvánecellák.....	92
2.3.	Referenciaelektrod (Vonatkozási elektrod).....	95
2.4.	Indikátorelektrodok	100
3.	Konduktometria.....	120
3.1.	A vezetés meghatározása.....	120
3.2.	Konduktometriás titrálások	124
4.	Kérdések és számítási feladatok.....	129

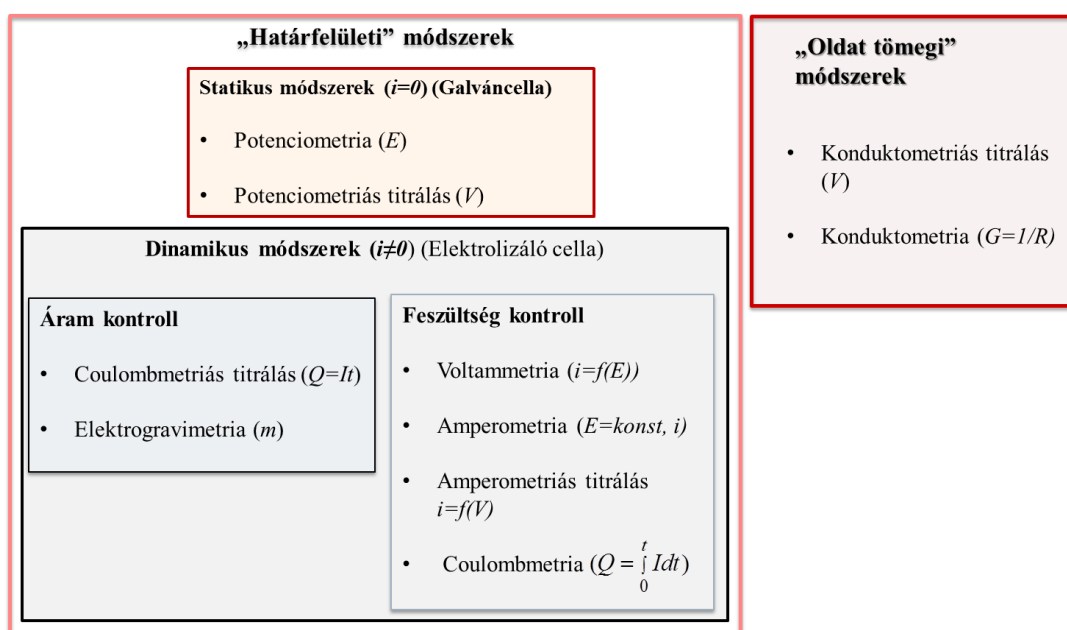
1. BEVEZETŐ

1.1.1. Elektroanalitikai módszerekről általánosságban

Az elektroanalitikai módszerek egy elektromos mennyiség értéke vagy változása alapján szolgáltatnak információt a minta összetételéről, egyes alkotói koncentrációjáról vagy aktivitásáról. Az elektromos mennyiség lehet feszültség, áram, ellenállás (vezetés) és töltés, amelyek időbeni változásokkal, mérési elrendezésekkel, különféle elektródokkal, illetve metodikákkal kiegészítve az elektroanalitikai módszerek rendkívüli változatosságát eredményezik.

Az elektroanalitikai méréseket elektrokémiai cellákban végezzük, amelyek alapvető részei az elektrokémiai mérőműszerhez csatlakoztatott elektródok és az elektrolit. Az elektroanalitikai módszerek során az esetek döntő többségében folyadék fázisú mintát vizsgálunk. Alapvetően két elektrokémia cellatípust különböztetünk meg: a **galvánecellát** és az **elektrolizáló cellát**. A galvánecella esetében egy önként végbemenő kémiai folyamat elektromos energiát generál (munkát termel), az elektrolizáló cellában ennek fordítottja történik, azaz külső áramforrás alkalmazásával kémiai folyamatokat idézünk elő.

Nagyon lényeges sajátossága az elektroanalitikai módszereknek, hogy az elektródok közvetlenül érintkeznek a mintával és a kémiai információt szolgáltató folyamatok az esetek többségében az elektród|mintaoldat fázishatáron zajlanak le. A fázis határfelületi módszerek mellett azonban vizsgálhatjuk az elektrolitoldat tömegi tulajdonságait is, így például az oldat vezetését, illetve ennek változását valamilyen kémiai reakció során. További felosztása az elektrokémiai módszereknek az alapján történik, hogy folyik-e áram vagy sem az elektrokémiai cellán keresztül: a **statikus** módszerek esetében gyakorlatilag nem folyik áram, míg a **dinamikus** módszerek esetében igen. Az 1.1.1.1. ábra grafikus formában mutatja be az alapvető elektroanalitikai módszereket.



1.1.1.1. ábra. Az alapvető elektroanalitikai módszerek csoportosítása

Az elektrokémiai cellák mellett nyilván szükség van olyan mérőműszerekre, amelyek a minta összetételére jellemző elektromos mennyiségek mérésére alkalmasak. Az elektroanalitikai mérésekhez használt műszerek viszonylag olcsók és jól miniaturizálhatóak, tekintettel arra, hogy az általában elektromos elven működő mérőműszerek segítségével a mérés során kapott elektromos jelek közvetlenül feldolgozhatóak. A leggyakrabban alkalmazott mérőműszerek a **nagy bemeneti ellenállású feszültségmérők** potenciometriás módszereknél, a **potenciosztát/galvanosztát** a dinamikus, elektro-

lízisen alapuló módszereknél, és a **konduktométer** az oldat vezetésének mérésén alapuló módszereknél. A potenciosztátok/galvanosztátok olyan külső feszültség-, illetve áramforrások, amelyek potenciosztatikus működés esetében a kimenő feszültség szabályozására (állandó értéken tartására) a galvanosztatikussal működés esetében pedig a kimenő áram állandó értéken tartására, szabályozására alkalmasak. Ezekkel a műszerekkel egy elektrolizáló cellában kémiai folyamatokat lehet előidézni és mérni a cellán átfolyó áram erősségét vagy a keletkező elektromos feszültséget. A potenciosztátok különböző kiépítésben érhetőek el, de általánosan nemcsak egy adott feszültség vagy áramerősség rendkívül pontos beállítására alkalmasak a csatlakoztatott cellában, hanem komplex feszültségprogramok, azaz időben változó feszültségértékek beállítására is. Feszültségprogramokat alkalmazunk például voltammetriás mérések során a jel/zaj viszony és az érzékenység növelésére. További jellemzője az elektroanalitikai célú potenciosztátoknak, hogy nagyon kis áramerősségek mérésére is alkalmasak (akár fA felbontás is elérhető), amely alapvető fontosságú a rendkívül kis anyagmennyiségek elektrolíziséből származó áramerősség mérésénél.

Az elektrolízisen alapuló dinamikus módszerek **elvileg** minden **oxidálható** vagy **redukálható** (elektrokémiaiilag aktív) komponens meghatározására alkalmasak. Rendkívül sok vegyület mutat elektrokémiai aktivitást, így oxidálható vagy redukálható funkciók csoportokkal rendelkező szerves anyagok ($>C=O$, $-C\equiv N$, NO_2 , $-CHO$, $-N=N-$, $-NO$, $>C=C<$, $>C\equiv C<$, $-NO=N-$, $-NH-OH$, $-S-S-$, $-O-O-$, stb.), fémionok (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , stb.), anionok (CN^- , Br^- , Cl^- , IO_3^- , SCN^- , S^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , stb.) és egyéb szervesetlen komponensek, illetve (bio)makromolekulák.

Voltammetriás módszerek esetében a meghatározandó komponens elektrolíziséből származó áramot mérjük, amely a komponens oldatbeli koncentrációjával arányos. A **coulombmetriás** módszereknél a töltés mennyiségét mérjük, amelyet egy komponens oxidációs vagy redukációs reakcióban történő átalakítására (vagy a reagens termelésre) használunk. A coulombmetriás módszer alapvető követelménye, hogy az analitikai célra használt elektródreakció áramhasznosítása 100% legyen, azaz a töltés csak a meghatározandó komponens (vagy a generált reagens) redoxireakciója következtében keletkezzon, mert csak így számíthatunk töltésmennyiségből anyagmennyiséget. A coulombmetriás módszerek előnye, hogy nem szükséges kalibráció hiszen a töltésből a meghatározandó anyagmennyiség a Faraday-törvény szerint kiszámítható. Az alapvető különbség a coulombmetria és a voltammetria között, hogy a coulombmetriában az anyagot mennyiségileg oxidáljuk vagy redukáljuk (nagy elektródterület/oldattérfogat arányok mellett) míg a voltammetriában a kiindulási anyagmennyiséghez képest az átalakított mennyiség elhanyagolható mértékű. Miért arányos akkor voltammetria esetében a mért áramerősség a koncentrációval? Nagyon leegyszerűsítve, voltammetriás mérések során az elektród felületén a mérendő komponens teljes mértékben átalakítjuk (felületi koncentrációja nulla) míg az oldattömegében a koncentrációja változatlan marad. Az így kialakuló koncentrációgradiens hatására diffúziós anyagtranszport indul meg az elektródfelületre és ebben az esetben az áramerősséget az fogja meghatározni, hogy milyen sebességgel tud a mérendő komponens az oldattömegéből az elektród felületére kerülni. Természetesen nagyobb koncentrációnál időegység alatt nagyobb anyagmennyiség diffundál az elektródfelülethez, mint kisebb koncentrációnál és emiatt az áram értéke is nagyobb lesz. A voltammetriás módszerek esetében a diffúziós határáram lineárisan függ a mérendő komponens koncentrációjától, ehhez viszont biztosítani kell, hogy az elektródfelülethez a mérendő komponens kizárólag csak diffúzióval jusson el.

A dinamikus módszereknek rendkívül széles alkalmazhatósága, hiszen gyakorlatilag végtelen számú oxidálható vagy redukálható komponens létezik, azonban hátrányt is jelent, hiszen egy komplex minta esetében több komponens is oxidálódhat vagy redukálódhat az alkalmazott feszültségen és az elektrolízisükből származó kumulált áram nem ad lehetőséget egymástól független meghatározásukra. Ennek megfelelően a voltammetriás módszerek alkalmazhatósága egy adott komponens esetében erősen függ a minta összetételétől. További hátrányos tulajdonságuk, hogy az oldattal közvetlenül érintkező elektródokon végbemenő redox folyamatok, és/vagy a minta különböző **komponenseinek adszorpciója**, pl. biológiai eredetű mintákból egyes fehérjék adszorpciója megváltoztathatják az elektród aktív felületét. Ebben az esetben az áramerősség a meghatározandó komponens koncentrációjától függetlenül is változhat. Ennek a problémának a korai felismerése indította el a

csepegő higanyelektród voltammetriás munkaelektrodként való alkalmazását, ugyanis a mindig megújuló higanycseppen az elektrolízis körülményeit rendkívül jól lehet reprodukálni.

A voltammetriás módszerek előnyei között említhető ugyanakkor a **rendkívüli kis kimutatási határ**, esetenként akár 10^{-12} M, **tág dinamikus tartomány**, illetve **speciációs analízisre** való alkalmasság. A speciációs analízis lehetővé teszi a különböző oxidációs állapotban levő komponensek, vagy szabad és kötött (komplex) formában levő komponensek megkülönböztetését. Amennyiben a zavaró hatások kiküszöbölhetők és csak az analitikai módszer teljesítményparaméterei, illetve az analízis fajlagos költsége határozza meg a módszer kiválasztását, akkor a voltammetriás módszerek rendkívül versenyképesek.

A dinamikus módszerek szelektivitását, pontosságát és/vagy alkalmazhatóságát növelhetjük további kémiai reakciók beiktatásával például amperometriás vagy coulombmetriás titrálások esetében. Jellemző példa, hogy egy elektrokémiai nem aktív, közvetlenül nem meghatározható komponens titrálunk egy elektrokémiai aktív komponenssel. Az egyik legfontosabb titrimetriás alkalmazás a coulombmetriás Karl Fisher vízmeghatározás, amely alkalmas rendkívül kis vízmennyiségek meghatározására különféle mintákban, pl. olajokban, üzemanyagokban, polimerekben és élelmiszerekben. Egyes becslések szerint ezzel a módszerrel napi félmillió meghatározást végeznek világszerte.

A voltammetriás módszereket, különös tekintettel az amperometriára, ahol az elektrokémiai cellára alkalmazott konstans feszültség hatására végbemenő redoxireakció szolgáltatja áramerősséget mérjük, elterjedten alkalmazzák elektrokémiai érzékelőkben. Az elektrokémiai érzékelőkben az alapelektrodot különböző molekuláris felismerésre alkalmas komponensekkel vagy anyagokkal tesszük szelektívvé. Az ún. **Clark-féle oxigénelektrod** esetében, amelyet az oldott oxigén meghatározására használunk, gázáteresztő membránnal vonjuk be a platina alapelektrodot. Ezzel biztosítjuk, hogy egyéb redukálható gázok hiányában a platina elektródon csak az oxigén redukálódjon ($\text{Pt} (-600 \text{ mV vs. Ag/AgCl}) 2\text{e}^- + \frac{1}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{OH}^-$). A legfontosabb elektrokémiai érzékelő, az elektrokémiai **vércukormérő**, esetében pedig glükóz-oxidáz enzimréteggel vonjuk be az alapelektrodot. Az egyik gyakran alkalmazott detektálási elv esetében az enzimréteg az elektrokémiai nem aktív glükóz oxidációját katalizálja, amelynek során többek között hidrogén-peroxid is keletkezik. A platina alapérzékelőn oxidált hidrogén-peroxid áramjele arányos a vér glükózkoncentrációjával. Az elektrokémiai érzékelők miniatürizálhatóságát és költséghatékony előállítását meggyőzően bizonyítja, hogy a vércukormérők esetében az elektrokémiai cella, ahol az enzimreakció és az reakciótermék elektrolízise történik, egyszeri használatra tervezettek, azaz minden mérést egy új cellával végezzük. Amíg a Karl Fisher titrálásnál naponta félmillió analízist végeznek, addig a vércukormérők csak otthoni használatra számolva (kb. 120 millió cukorbeteg tartanak nyilván világszinten) meghaladja a fél milliárd mérés/nap értéket.

A direkt potenciometriás módszerek esetében a kalibráció, vagy standard addíciós módszerek alkalmazásával a mért cellafeszültség alapján a mérendő komponens aktivitását (koncentrációját) közvetlenül határozzuk meg. A legfontosabb alkalmazásuk a pH-meghatározás, de emellett a különböző alkáli és alkáli földfémek mérése is rendkívül jelentős pl. a klinikai analízisben. A véranalízis során a H^+ -, Ca^{2+} -, K^+ -, Na^+ -értékeket mind potenciometriás, ún. ionszelektív elektródokkal határozzák meg. Emellett a potenciometria megfelelő indikátor elektródok alkalmazásával kiválóan alkalmas a legtöbb titrálás (sav-bázis, redoxi, csapadékos és komplexometriás) műszeres végpontjelzésére. A potenciometriás titrálások alkalmazási körét elsősorban a csapadékos és sav-bázis reakciók esetében jól kiegészíti a konduktometriás titrálás.

2. POTENCIOMETRIA

2.1. BEVEZETÉS

A potenciometria az elektródpotenciálok mérésén alapuló elektroanalitikai eljárás, amelynél a mérendő komponens meghatározására a vizsgálandó oldatban elhelyezett **indikátorelektrodon** kialakuló potenciáljelet (elektrodpotenciál változást) használjuk. A mérendő komponens aktivitását (koncentrációját) meghatározhatjuk közvetlenül az elektródpotenciál értékéből (kalibrációval vagy standard addícióval), ezt nevezzük direkt potenciometriának, vagy közvetve egy kémiai reakció segítségével (indirekt potenciometria). Az indirekt potenciometria legfontosabb esete a potenciometriás titrálás, amelynek során a komponens koncentrációját a mérő oldat fogyásából határozzuk meg. Ebben az esetben az indikátorelektrod elektródpotenciájának változását a titrálás végpontjának jelzésére használjuk.

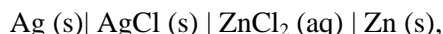
Egyetlen elektród potenciálját nem lehet megmérni, csak egy galvancia elektromos potenciál különbségét, ezért az elektródpotenciál mérésekor úgy járunk el, hogy a vizsgálandó oldat és az ebbe merülő indikátorelektrod, illetve állandó potenciálú vonatkozási (összehasonlító vagy referencia) elektród által képezett galvancia elektromotoros erejét mérjük, úgy, hogy a mérő áramkörben áram gyakorlatilag nem folyhat. A referencia elektród állandó potenciálja biztosítja, hogy a mért elektromotoros erő változását gyakorlatilag csak az indikátorelektrod potenciálja határozza meg. A két elektród egy nagy bemeneti ellenállású feszültségmérő műszerhez van csatlakoztatva, amelynek leggyakoribb alkalmazásából, a pH-mérésből, eredendően pH-mérőnek is hívják. A nagy bemeneti ellenállás (10^{12} – $10^{15} \Omega$) biztosítja azt, hogy az áramkörben csak elhanyagolható mennyiségű áram folyjon, ami a potenciometriás mérés alapvető feltétele. Természetesen a gyakorlatban kivitelezhetetlen, hogy az áram a mérő áramkörben nulla legyen, ez ugyanis az áramkör megszakításának felelne meg, de a feszültségmérő bemeneti ellenállásától függően az áramérték pA vagy annál kisebb érték.

Miért fontos a potenciometriás áramkörben átfolyó áram a nullához közeli értéken való tartása? Ez a követelmény ugyanis első látásra nehezen egyeztethető össze a galvancia azzal a köztudatban rögzült feladatával, hogy elektromos áramot hozzanak létre. Ennek két oka van.

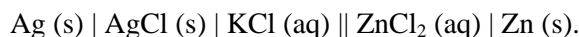
1. A potenciometriában alkalmazott indikátorelektrodok ellenállása sok esetben igencsak nagy. A pH-érzékeny üvegelektrodok esetében akár több száz MOhm is lehet. Amennyiben az áramkörben áram (I) folyik, akkor a mérőcellában feszültségesés jelentkezik az elektrodokon ($I \times R_{\text{elektrod}}$) és a cellafeszültség mellett ezt a feszültségesést is nem elkülöníthető módon mérnénk. Még nanoamperes (10^{-9} A) áramerősség esetében is 100 MOhm ellenállású indikátorelektrod esetében a feszültségesés 100 mV ($(100 \times 10^6 \Omega) \times 10^{-9} \text{ A} = 0.1 \text{ V} = 100 \text{ mV}$) mértékű, ami összemérhető a szintén mV tartományba eső cellafeszültség értékekkel. Könnyen belátható, hogy csak az áramerősség elhanyagolható értéken való tartása mellett lehet biztosítani, hogy nagy ellenállású elektrodok esetében a feszültségmérés hibája (az ohmikus hiba) a gyakorlatban megkövetelt 0.1 mV alatt maradjon. Ezt úgy lehet biztosítani, hogy a feszültségmérő bemeneti ellenállása legalább 10^4 -szerese legyen az elektrokémiai cella ellenállásának.
2. A galvancia abban az esetben termelhet elektromos áramot, amikor a cellareakció nincs egyensúlyban, ugyanis az áram mindig egy nettó kémiai folyamat jellemzője. A nagy bemeneti ellenállású feszültségmérő beiktatása az áramkörben viszont csak elhanyagolható mértékű áramot tesz lehetővé az áramkörben és ezáltal az elektrokémiai cellában az elektrolitok koncentrációja nem változik meg a mérés során. A gyakorlatban ez azt jelenti, hogy a mérést többször elvégezve különböző időkben ugyanazt a cellafeszültséget fogjuk mérni. A nagy bemeneti ellenállás jelentősége talán jobban megérthető egy ellenpéldán keresztül, azaz ha a nagy ellenállás beiktatása helyett a rendszert rövidre zárjuk a két elektród elhanyagolható ellenállású vezetékkel való összekapcsolása által. Ebben az esetben a cellareakció során a komponensek koncentrációja az elektródterekben folyamatosan változik egészen addig, amíg az elektrodok közötti egyensúlyi állapotot elérjük azaz amíg a két elektród elektródpotenciálja azonos. Ezután a reakciónak már nincs hajtóereje mert a cellafeszültség nulla lesz. Egy szárazelem esetében ez a szárazelem lemerülésének felel meg.

2.2. GALVÁNCÉLLÁK

A galvánccella felépítése szerint lehet átvitel nélküli vagy átviteles cella. Példa átvitel nélküli cellára:



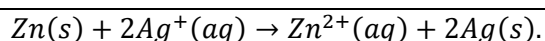
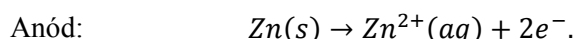
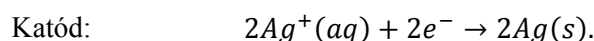
illetve átviteles cellára:



A két cella felépítése közötti lényeges különbség az, hogy míg az átvitel nélküli cella csak elektród-oldat határfelületeket (|), addig az átviteles cella – a KCl és ZnCl₂ oldat érintkezésénél – folyadék-folyadék határfelületet (||) is tartalmaz. Ez utóbbi határfelületen fellépő potenciálkülönbség a folyadék-folyadék határfelületi potenciál, vagy más néven diffúziós potenciál.

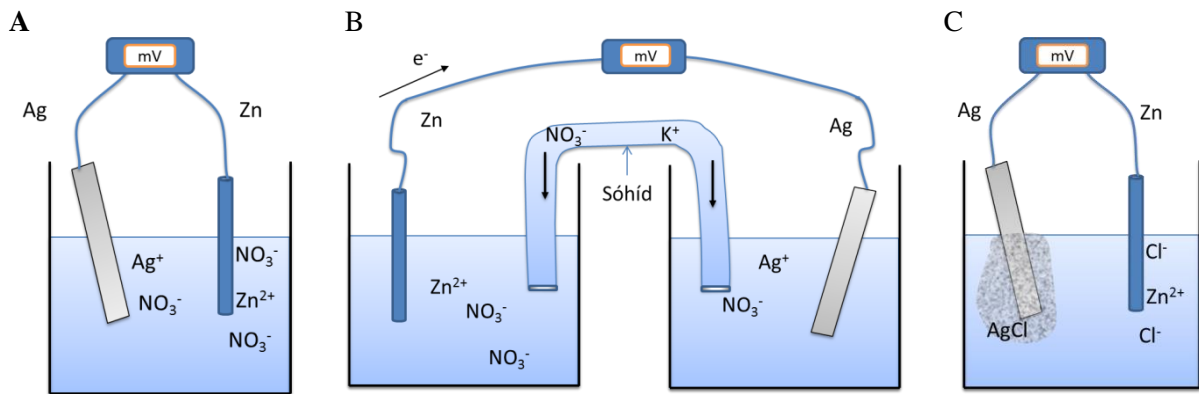
2.2.1. Miért van szükség átviteles cellák alkalmazására?

A választ könnyen beláthatjuk egy egyszerű példán keresztül. A 2.2.1.1. ábrán (A) felvázolt galvánccella esetében egy ezüstlemez és egy cinkrúd képezi a két elektródot, amelyek Zn(NO₃)₂ és AgNO₃ tartalmú oldatba merülnek. Ahhoz, hogy a galvánccella működjön a következő cellareakció szükséges:



Annak ellenére, hogy a feltételek adottak látszanak a működéshez, hiszen minden szükséges reagenst/elektrodot tartalmaz, a cella mégsem fog működni, azaz áramot termelni. Ennek az az oka, hogy az ezüstionok közvetlenül a Zn elektródon is redukálódhatnak (cementálódnak) és nem csak az ezüstelektrodon. Ebben az esetben helyileg a Zn elektródon megy végbe mindkét redoxireakció és nem kerülnek elektronok a külső áramkörbe. Ilyenkor indokolt az átviteles cella alkalmazása [2.2.1.1. ábra (B)] ahol az elektródterek (két félcella) fizikailag el vannak választva egymástól és az elektromos kapcsolatot az elektródterek között egy ún. sóhíddal biztosítjuk. A sóhíd az ábrázolt esetben egy „U” alakú üvegcsőbe töltött KNO₃ oldattal impregnált gél, amelyben az elektromos vezetést a kálium- és nitrátionok biztosítják. Tekintettel arra, hogy az ezüstionok redukciója immár csak az ezüstlemezen történhet meg az áramkörben elektronok vándorolnak és áram folyhat át a cellán. Ennek hajtóereje, hogy a Zn oxidációja során felszabadult elektronok csak a külső áramkörön keresztül kerülhetnek az ezüstelektroddhoz ahol az Ag⁺ redukciója történik, más szóval a Zn térben elkülönítve redukálja az ezüstionokat. Az áramkör a két félcella (elektrodtér) elektrolitjain és a sóhídon keresztül záródik. A nagy bemeneti ellenállású feszültségmérő beiktatása mellett természetesen csak elhanyagolható mértékű áram folyhat az áramkörben a mért cellafeszültség értéke pedig ilyen körülmények között állandó. Az analitikai jellegű alkalmazásokban gyakorlatilag csak átviteles cellákat alkalmazunk, azért is, mert a mintaoldatok cseréjét és a referencia félcella komponensei által történő szennyeződés vagy zavarás elkerülését így a legkézenfekvőbb biztosítani.

A 2.2.1.1. ábra (C) egy olyan rendszert mutat be, ahol átvitel nélkül is működik a galvánccella. Ebben az esetben az ezüstelektrod helyett AgCl csapadékkal bevont ezüstelektrodot használunk. Bár az Ag/Ag⁺ redoxirendszer ugyanúgy fennmarad, mint az (A) esetben, nem lévén számottevő Ag⁺ az oldatban (az AgCl csapadék oldódását visszaszorítja a kloridion felesleg), nem történik meg az ezüst kiválás a cinkelektrodra, azaz a félcella reakciók a megfelelő elektródokon lokalizáltak és az elektronok csak a külső áramkörön keresztül jutnak el az egyik elektródtól (Zn-anód) a másikhoz (Ag/AgCl-katód).



2.2.1.1. ábra. Átvitel nélküli rövidre zárt cella (A),
átviteles cella „U” alakú sóhíddal (áramkulccsal) (B) és átvitel nélküli cella (C)

2.2.2. A galváncella feszültsége

Az elmondottak szerint a galváncella feszültsége a 2.2.1.1. ábra (C) felépítésű cella esetén a következőképpen határozható meg:

$$E_{\text{cella}} = E_{+} - E_{-}$$

A Nernst-egyenletet alkalmazva a következő összefüggéshez jutunk:

$$E_{\text{cella}} = E_{\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}} + \frac{RT}{2F} \ln a_{\text{Zn}^{2+}} - E_{\text{Ag}/\text{AgCl}} + \frac{RT}{2F} \ln a_{\text{Cl}^{-}}$$

Átvitel nélküli cellákra az analitikai szempontból releváns mérési elrendezésekre általános alakban felírva:

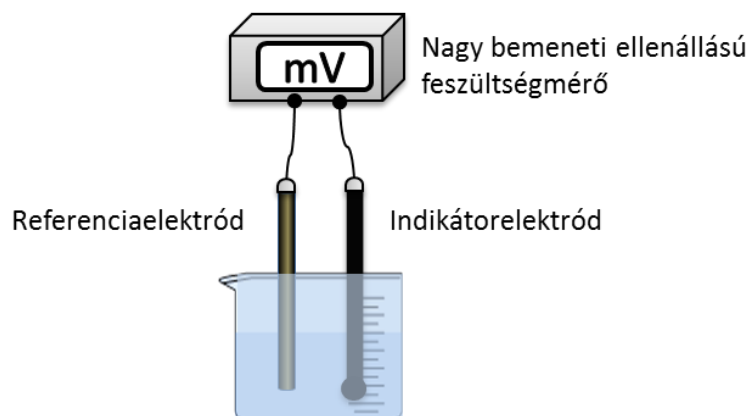
$$E_{\text{cella}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}}$$

ahol E_{ind} és E_{ref} az indikátorelektrod, illetve a referenciaelektrod potenciálja.

Mint említettük a potenciometriás analízis során átviteles cellákat használunk (lásd 2.2.2.1. ábra). A referenciaelektrod sóhídon keresztül érintkezik a mintaoldattal és ilyenkor a mintaoldat/sóhíd (folyadék/folyadék) határfelületen kialakult **diffúziós potenciált** (E_{diff}) is figyelembe kell venni. A gyakorlatban a sóhíd a referenciaelektrod része és nem a 2.2.1.1. ábrán bemutatott „U” alakú áramkulcsot használjuk. Ebben az esetben a cellafeszültség képlete a következőképpen módosul.

$$E_{\text{cella}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{von}} + E_{\text{diff}}$$

A diffúziós potenciál kialakulásának mechanizmusát és az értékét befolyásoló tényezőit a későbbiekben részletesen ismertetjük.



2.2.2.1. ábra. Potenciometriás mérési elrendezés

A galvancia cella feszültségét leíró összefüggés az elektródpotenciált az aktivitások logaritmusának függvényében tünteti fel, ugyanakkor az analitikai meghatározásoknál legtöbb esetben koncentrációt kívánunk meghatározni. Mennyire tér el hát az aktivitás a koncentrációtól? Elektrolitoldatok esetében az ionaktivitás (a) és koncentráció (c) között a következő összefüggés áll fenn:

$$a = \gamma c, (a = \gamma c/c^0),$$

ahol γ az aktivitási együttható,
és c a moláris koncentráció,
 c^0 a standard vagy referencia koncentráció.

Az aktivitási együttható értéke a Debye–Hückel-elmélet alapján a z töltésű ion esetében a következő egyenlettel számolható:

$$\lg \gamma = \frac{-0.51 z^2 \sqrt{I}}{1 + \alpha \sqrt{I} / 305},$$

ahol I az elektrolitoldat ionerőssége,
 α a hidratált ion átmérője (pm).

Az egyenlet 0.1 M -nál kisebb ionerősségek esetében alkalmazható.

Az ionerősség az elektrolitoldat, ionok töltésével súlyozott, összionkoncentrációját adja meg a következő összefüggés szerint:

$$I = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2,$$

ahol Σ az oldat összes ionjára vonatkozik.

A hidratált ion átmérője megtalálható különböző adatbázisokban, néhány ionra vonatkozó értékét az [2.2.2.1. táblázatban](#) foglaltuk össze.

Ion	α , pm	Ionerősség				
		0.001	0.005	0.01	0.05	0.1
H ⁺	900	0.967	0.933	0.914	0.86	0.83
Li ⁺	600	0.965	0.930	0.909	0.845	0.81
Na ⁺ , IO ₃ ⁻ , HCO ₃ ⁻ , HSO ₃ ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , H ₂ AsO ₄ ⁻	400	0.964	0.927	0.901	0.815	0.77
K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , Tl ⁺ , Ag ⁺ , NH ₄ ⁺ , OH ⁻ , F ⁻ , SCN ⁻ , HS ⁻ , ClO ₄ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , IO ₄ ⁻ , MnO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ , NO ₃ ⁻	300	0.964	0.925	0.899	0.805	0.755
Mg ²⁺ , Be ²⁺	800	0.872	0.755	0.69	0.52	0.45
Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Sn ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺	600	0.870	0.749	0.675	0.485	0.405
Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Ra ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Hg ²⁺ , S ²⁻ , CO ₃ ²⁻ , SO ₃ ²⁻	500	0.868	0.744	0.67	0.465	0.38
Hg ₂ ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , CrO ₄ ²⁻ , HPO ₄ ²⁻	400	0.867	0.740	0.660	0.445	0.355
Al ³⁺ , Fe ³⁺ , Cr ³⁺ , Ce ³⁺ , La ³⁺	900	0.738	0.54	0.445	0.245	0.18
PO ₄ ³⁻ , Fe(CN) ₆ ³⁻	400	0.725	0.505	0.395	0.16	0.065
Th ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , Ce ⁴⁺ , Sn ⁴⁺	1100	0.588	0.35	0.255	0.1	0.065
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	500	0.57	0.31	0.2	0.048	0.021

2.2.2.1. táblázat. Kielland-féle táblázat. Néhány hidratált ion átmérője és ezekre számolt aktivitási együttható különböző ionerősségű oldatokban

A Kielland-féle táblázat egyrészt segítséget nyújt abban, hogy az aktivitási együtthatókat számítás nélkül tudjuk becsülni, másrészt kiválóan szemlélteti azokat a körülményeket, amikor az aktivitás és a koncentráció számottevően különbözik. Látszik, hogy az eltérés nő az ionerősség növekedésével és az eltérés annál nagyobb minél nagyobb az ion töltése. Egy vegyértékű ionok esetében 0.001 M-nál kisebb koncentrációk esetében az aktivitás már csak elhanyagolható mértékben tér el a koncentrációtól ($\gamma=0,97$), viszont négy vegyértékű ionok esetében még mindig csak körülbelül a fele a koncentrációnak ($\gamma=0,6$).

A gyakorlatban az aktivitás-koncentráció átalakításnak nagyon korlátozott jelentősége van, mert a mintaoldat ionerőssége legtöbb esetben nem ismert. A Debye–Hückel-egyenlet ismertetésének igazából az az elsődleges célja a jegyzetben, hogy az aktivitást meghatározó tényezőket és azok hatását szemléltesse. Jogosan felmerül akkor a kérdés, hogy akkor hogyan lehet koncentrációértékeket meghatározni potenciometriás módszerrel? Először is világosan kell lássuk, hogy az indirekt potenciometriás módszerek esetében nem szükséges ez a konverzió, mert a koncentrációt a mérőoldatfogyásból állapítjuk meg, attól függetlenül, hogy az indikátorelektrod potenciálválaszt az aktivitás határozza meg. Szintén nem szükséges a konverzió a pH-mérésnél, hiszen a pH a hidrogénion aktivitásának (nem koncentrációjának) negatív logaritmus. A többi, direkt potenciometriás módszer esetében a gyakorlatban a mintaoldathoz (és kalibrációs oldatokhoz) nagy koncentrációjú elektrolitoldatot adagolunk. Ez az elektrolitoldat ún. ionerősség beállító puffer (TISAB-total ionic strength adjusting buffer) értelem-szerűen nem tartalmazhat zavaró ionokat az adott komponens meghatározása tekintetében, és mindemellett az ionerőssége mellett a minta (kalibráló oldat) ionerőssége elhanyagolható kell legyen:

$$I_{TISAB} \gg I_{mintaoldat} \Rightarrow I = I_{mintaoldat} + I_{TISAB} \approx I_{TISAB}$$

Ebben az esetben a kalibrációt és a mérést ugyanazon, állandó ionerősségű oldatokban végezzük és ez a Debye–Hückel-egyenlet alapján azt jelenti, hogy aktivitási együttható állandó. Ily módon, mint azt később bemutatjuk, a mérőcella konstans potenciál tagjába olvasztható.

A nagy ionerősségű mintaoldatok esetében az ionerősség beállító puffer nem igazán alkalmazható, mert nem teljesül az a feltétel, hogy $I_{TISAB} \gg I_{mintaoldat}$. Ebben az esetben, amennyiben nem a mérendő komponens határozza meg a mintaoldat ionerősségét, a standard adíció alkalmazása lehet az egyik megoldás, hogy a mérendő komponens koncentrációját meghatározzuk. A standard adíció során a mérendő ion ismert térfogatú és koncentrációjú oldatát adagoljuk a mintaoldathoz és könnyen belátható, hogy ha nem a mérendő ion határozza meg a mintaoldat ionerősségét, akkor az adagolás után nem változik számottevően az ionerősség.

2.3. REFERENCIAELEKTROD (VONATKOZÁSI ELEKTROD)

Referenciaelektrodnak nevezzük a potenciometriás mérőcellák azon elektrodját, amelynek potenciálja a mérendő mintaoldat összetételétől független és állandó. Ehhez a konstans elektrodpotenciálhoz képest tudjuk meghatározni az indikátor elektrod potenciálját. Ha mindkét elektrod potenciálja változna a mintaösszetétel függvényében, akkor a mért cellafeszültséget nem tudnánk egy adott komponens aktivitásának meghatározására alkalmazni.

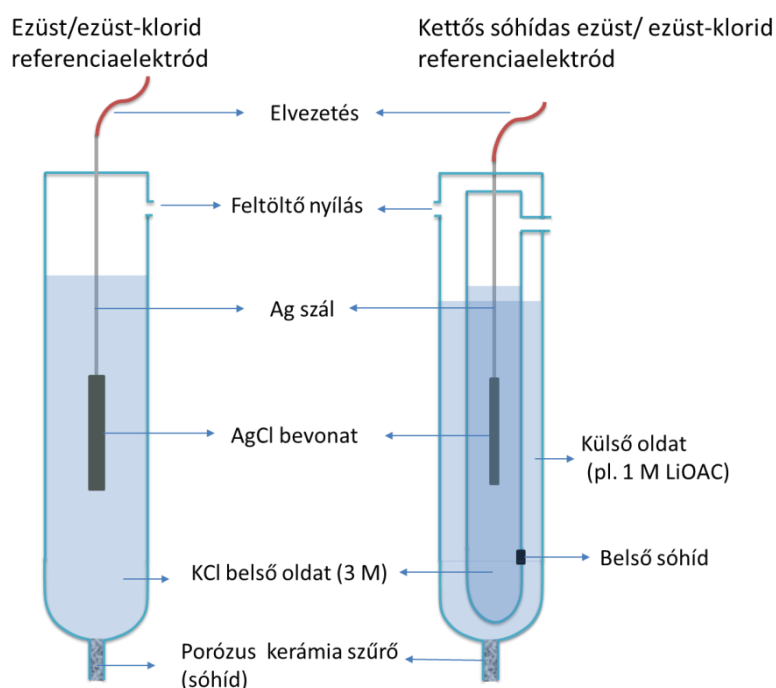
Mivel egy elektrod potenciálját mindig csak egy másik elektrodhoz képest lehet meghatározni, szükséges a potenciál skála nullapontjának konvenció szerinti meghatározása. Ez konvenció szerint megfelel a standard hidrogénelektrod (SHE) elektrodpotenciáljának. A standard hidrogénelektrod egy platinázott platina (Pt/Pt) elektrod, amely egységnyi aktivitású oxónium- (H_3O^+) iont tartalmazó oldatba merül 25 °C hőmérsékleten. Az oldatba hidrogéngázt buborékolatunk 10^5 Pa nyomással, amely az egységnyi hidrogéngáz aktivitásnak felel meg ($Pt | H_2(g, a = 1) | H^+(aq, a = 1)$).

A standard hidrogénelektrod segítségével meghatározható egy adott elektrod elektrodpotenciálja, ami megfelel a vizsgált elektrodból és (standard hidrogénelektrodból épített galvancia cella elektromotoros erejének (gyakorlatilag nulla áram mellett mért cellafeszültségnek). Magától adódik, hogy a standard hidrogénelektrodot alkalmazzuk vonatkozási elektrodként, de mivel használata kísérletileg rendkívül nehézkes, ezért a gyakorlatban az **ezüst/ezüst-klorid** és a **telített kalomel** referenciaelektrodok terjed-

tek el. Mindkét elektród egy másodfajú elektród, azaz a fém saját rosszul oldódó sójával telített elektrolitba merül, és az elektrolit feleslegben tartalmazza a rosszul oldódó só anionját is.

2.3.1. Ezüst/ezüst-klorid referenciaelektród

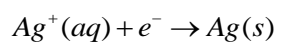
Az ezüst/ezüst-klorid elektród esetében egy ezüst-klorid csapadékréteggel bevont ezüsthuzal merül KCl-oldatba. Az ezüst-klorid bevonatot elektrolitikusan (az ezüst szálra pozitív feszültséget kapcsolunk egy kloridion tartalmú oldatban) vagy az ezüsthuzal ezüst-klorid olvadékba való mártásával állítják elő. A KCl-oldat leggyakrabban 1 vagy 3 M koncentrációjú, de mindenképpen tömény oldat. A referenciaelektród felépítését a 2.3.1.1. ábra mutatja be.



2.3.1.1. ábra. Ezüst/ezüst-klorid és kettős sóhidas ezüst/ezüst-klorid referenciaelektród

Az üvegből vagy műanyagból készült elektródtest tartalmazza a KCl-oldatot és az ebbe merülő Ag/AgCl elektródot. Az elektród porózus membránon (diafragmán) keresztül érintkezik a mintaoldattal. A diafragma a referenciaelektród belső oldatát választja el a mintaoldattól, meggátolva ezek keveredését. Ugyanakkor az oldat által átnedvesítve átjárható az ionok számára és ez biztosítja az elektromos kapcsolatot az elektród és a mintaoldat között. Tulajdonképpen a porózus membrán egy sóhíd, hiszen a galvancellák fordított U alakú sóhídjának feladatát látja el, azaz a két félcella közötti elektromos kapcsolatot biztosítja (ionvezető) és mindemellett meggátolja a két elektrolitoldat keveredését. A sóhíd oldata megegyezik a referenciaelektród belső oldatával.

Ha megvizsgáljuk a referenciaelektród felépítését, hogy az elektródpotenciált meghatározó kémiai folyamatot azonosítsuk, akkor egyértelmű, hogy az ezüst két különböző oxidációs állapotban fordul elő: Ag^0 (ezüsthuzal) és Ag^+ (AgCl-csapadék). Ez arra utal, hogy az elektródpotenciált az Ag/Ag⁺ redox rendszer egyensúlya határozza meg a következő reakció szerint:



Az elektródreakció potenciálját kifejezzük a Nernst-egyenlettel, és figyelembe vesszük, hogy az elektródszám-változás a félreakcióban $z=1$, illetve hogy tiszta szilárd állapotú anyagok aktivitása 1 ($a_{\text{Ag}}=1$).

$$E = E_{Ag/Ag^+}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{Ag^+}}{a_{Ag}} = E_{Ag/Ag^+}^0 + \frac{RT}{F} \ln a_{Ag^+}$$

ahol E_{Ag/Ag^+}^0 a megfelelő elektrokémiai egyensúly standard elektród potenciálja,

R az egyetemes gázállandó ($8,314 \text{ J/mol} \times \text{K}$),

T az abszolút hőmérséklet (K),

F a Faraday-állandó (96485 C/mol).

Az ezüstionok aktivitását az AgCl-csapadék oldódása határozza meg az oldhatósági szorzat alapján ($L_{AgCl} = a_{Cl^-} \times a_{Ag^+}$, $L_{AgCl} = 1,77 \times 10^{-10}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$). Az oldhatósági szorzat képletéből kifejezve az Ag^+ -aktivitást és behelyettesítve a Nernst-egyenletbe olyan összefüggéshez jutunk, amely szerint adott hőmérsékleten a referenciaelektród elektródpotenciálja kizárólag a Cl^- -aktivitás függvénye.

$$E = E_{Ag/Ag^+}^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{L_{AgCl}}{a_{Cl^-}} = E_{Ag/Ag^+}^0 + \frac{RT}{F} \ln L_{AgCl} - \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-}$$

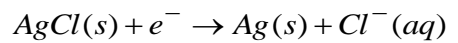
Az első két tag összege tulajdonképpen $E_{Ag/AgCl}^0$. Számszerűsítve $E_{Ag/Ag^+}^0 = 0,799 \text{ V}$,

$\frac{RT}{F} \ln L_{AgCl} = \frac{8,314 \times 298,15}{96488} \ln(1,77 \times 10^{-10}) = -0,577 \text{ V}$, összegük pedig $0,222 \text{ V}$, amely megegyezik

$E_{Ag/AgCl}^0$ értékével. Tehát az elektródpotenciál a következő formában is felírható:

$$E = E_{Ag/AgCl}^0 - \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-}$$

A fenti egyenletnek megfelelő elektródreakció viszont:

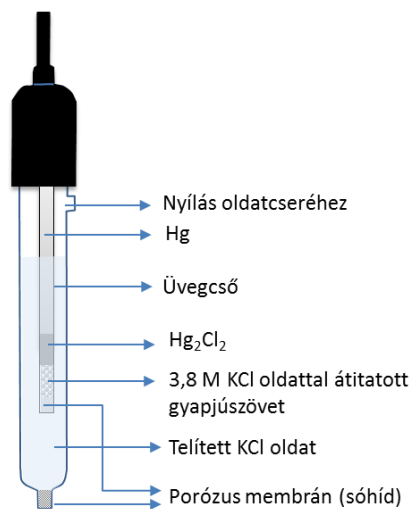


azaz az elektródpotenciál ekvivalens módon leírható mindkét kémiai reakcióval.

A referenciaelektród potenciáljának változatlan értéken való tartásához biztosítani kell, hogy az Ag/AgCl elektróddal érintkező belső oldatban a Cl^- -aktivitása állandó legyen. Könnyen belátható, hogy a belső oldat Cl^- -aktivitását elsődlegesen a diafragmán keresztüli anyagtranszport változtathatja meg. Ez az anyagtranszport megvalósulhat az ionok diffúziója által, vagy hidrosztatikus nyomáskülönbség hatására. Az utóbbi esetben lényeges, hogy elkerüljük a belső oldat elszennyeződését és ezért a referenciaelektródot csak olyan mértékben helyezzük a mintaoldatba, hogy a belső oldat szintje a mintaoldat szintjénél magasabban legyen. Ezáltal a szintkülönbségnek megfelelő hidrosztatikus nyomás hatására, a belső oldat kifelé áramlik és hatékonyan védi a belső oldatot az elszennyeződéstől. Ugyanakkor ideálisan a kifolyás nagyon kismértékű kell legyen, hogy éppen csak meggátolja a belső oldat elszennyeződését, de ne változtassa meg számottevően a mintaoldat összetételét. A porózus membrán anyagának megválasztása meghatározó az anyagtranszport mértékére nézve. Többféle konstrukciójú és többfajta anyagból készült diafragmájú referenciaelektród van forgalomban. Használhatnak szinterelt üveget, porózus kerámia- és teflonszűrőket, csiszoltos üvegfelületek érintkezési felületét, kisméretű réseket, illetve üveg- vagy fémszál kötegeket. Tipikusan a porózus kerámia szűrőkön keresztül a legkisebb a belső oldat kiáramlása ($10\text{--}100 \mu\text{l/nap}$) és a csiszoltos felületek esetében a legnagyobb (akár ml/nap). Az utóbbi esetben a számottevő belső oldatvesztés miatt a referenciaelektródok belső oldatát rendszeresen pótolni kell, az erre a célra kialakított nyíláson keresztül (lásd 2.3.1.1. ábra).

2.3.2. Telített kalomel referencialelektrod

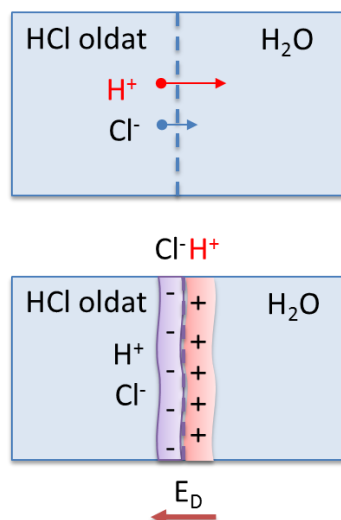
A telített kalomelelektrod szintén másodfajú elektrod, amely a következő elektrodreakción alapul $\frac{1}{2}Hg_2Cl_2(s) + e^- \rightarrow Hg(l) + Cl^-$ ($E^0 = 0,268V$). A telített kalomelelektrod (SCE, saturated calomel electrode) esetében, mint ahogy erre a neve is utal, a belső oldat telített KCl-oldat (szilárd fel nem oldódott KCl sókristályokat tartalmaz). A referencialektrod felépítését az 2.3.2.1. ábra mutatja be. Az elektropotenciál az ezüst/ezüst-klorid elektrod analógiájára a belső oldat kloridion aktivitása határozza meg ($E = E_{Hg/Hg_2Cl_2}^0 - \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-}$). A telített KCl-oldat alkalmazásának az előnye, hogy a belső oldat párolgása esetében sem változik a kloridion aktivitása, másrésztől viszont növeli az elektropotenciál hőmérsékletérzékenységet, hiszen a KCl oldékonysága hőmérsékletfüggő. A telített kalomelelektrod potenciálja 25 °C-on 0,241 V.



2.3.2.1. ábra. Telített kalomelelektrod felépítése

2.3.3. Diffúziós potenciál

A referencialektrodok sóhídja két különböző összetételű oldatot választ el egymástól és az ilyen folyadék|folyadék határfelületeknél számolni kell újabb potenciállal, melyet a kialakulásának eredetére utalva **diffúziós potenciálnak** (E_D) nevezünk.



2.3.3.1. ábra. A diffúziós potenciál kialakulásának szemléltetése folyadék|folyadék határfelületen

A diffúziós potenciál kialakulásának megértése céljából képzeljünk el két egymással érintkező oldatot, legyen ez egy sósavoldat és ioncserélt víz, oly módon, hogy a két oldat keveredése gátolt, azaz pl. egy porózus membrán által jól definiált, az ionok számára szabadon átjárható határfelület alakul ki (2.3.3.1. ábra). Nyilván a két oldat érintkezése után a H^+ - és Cl^- -ionok a sósavoldatból az ioncserélt víz fázisába diffundálnak. Ugyanakkor, a H^+ sokkal gyorsabban diffundál, mint a Cl^- és ezáltal a vízben egy oxóniumionokban „gazdagabb” réteg alakul ki, hátrahagyva egy kloridionokban „gazdag” réteget. Az elektromos töltés szempontjából ez azt jelenti, hogy a vizes fázis pozitív, míg a sósavoldat negatív töltéssel fog rendelkezni a két oldat határfelületén, azaz potenciálkülönbség fog kialakulni (2.3.3.1. ábra). A továbbiakban ez a potenciálkülönbség a H^+ transzportot lassítja, viszont a Cl^- transzportot gyorsítja és nagyon gyorsan beáll az egyensúlyi állapot, amelyet követően már egyenlő mennyiségű H^+ és Cl^- kerül a vizes fázisba. Tehát amellet, hogy a két ion folyamatosan diffundál a vizes fázisba, egyensúly alakul ki a különböző mobilitású ionok diffúziója okozta töltésszeparáció és az így generált diffúziós potenciál ellentétes hatása között. A fenti példa egyszerű esetet mutatott be, ahol gyakorlatilag csak egyik oldat ionjai diffundálnak a másikba. A gyakorlatban azonban mindkét oldatból a nagyobb koncentrációban levő ionok átdiffundálhatnak a másik oldatba, azaz a diffúziós potenciál kialakulásához mindkét oldat ionjai hozzájárulnak. A diffúziós potenciál értékét a Henderson-egyenlettel lehet kiszámítani:

$$E_D = \frac{-\sum_n z_n u_n (c_n' - c_n'')}{\sum_n z_n^2 u_n (c_n' - c_n'')} \times \frac{RT}{F} \ln \frac{\sum_n z_n^2 u_n c_n'}{\sum_n z_n^2 u_n c_n''}$$

ahol R az univerzális gázállandó,

T az abszolút hőmérséklet,

F a Faraday-állandó,

z_i az i ion töltésszáma,

u_i az i ion mozgékonyasága,

c_i' és c_i'' az i ion koncentrációja a mintaoldatban, illetve a referenciaelektrod sóhídjában.

Ion	Mobilitás [$m^2/s V$]
H^+	$36,30 \times 10^{-8}$
OH^-	$20,50 \times 10^{-8}$
SO_4^{2-}	$8,27 \times 10^{-8}$
Cl^-	$7,91 \times 10^{-8}$
K^+	$7,62 \times 10^{-8}$
NH_4^+	$7,61 \times 10^{-8}$
NO_3^-	$7,40 \times 10^{-8}$
Ca^{2+}	$6,12 \times 10^{-8}$
Na^+	$5,19 \times 10^{-8}$
CH_3COO^-	$4,24 \times 10^{-8}$
Li^+	$4,01 \times 10^{-8}$

2.3.3.1. táblázat. Néhány ion mobilitása

Az előbbieken alapján ha azt akarjuk, hogy a referenciaelektrod potenciálja a mintaoldattól független legyen, akkor nemcsak azt kell biztosítani, hogy a Cl^- aktivitás állandó legyen a belső oldatban, hanem azt is, hogy a referenciaelektrod sóhídja és a mintaoldat határfelületén kialakuló diffúziós potenciál is állandó legyen, és lehetőleg elhanyagolhatóan kis értékű. A gyakorlatban a cellafeszültséget nem tudjuk a Henderson-egyenlettel számított diffúziós potenciál értékével korrigálni, ugyanis a mintaoldat összetétele általában nem ismert. Ennek megfelelően a diffúziós potenciált a belső oldat megfelelő kiválasztásával tudjuk minimalni, olyan só oldatot használva, amelynek ellenionjai minél közelebbi mobilitással rendelkeznek. A 2.3.3.1. táblázat alapján látszik, hogy ez az oka, hogy a klorid ellenionjaként K^+ -iont választunk a belső oldatba, amely gyakorlatilag a kloridionnal megegyező mobilitással rendelkezik, és nem a jóval kézenfekvőbb nátrium sóját, ugyanis a Na^+ - és a Cl^- -ionok mobilitása között közel másfélszeres különbség van.

A diffúziós potenciált azonban nemcsak a belső, hanem a mintaoldat összetétele is befolyásolja, amely a referenciaelektrod potenciálállandósága biztosításának legnehezebb része. Tekintettel, hogy a diffúziós potenciált a két folyadék közül a nagyobbik koncentrációjú fogja elsődlegesen meghatározni, úgy próbáljuk a mintaoldat diffúziós potenciált befolyásoló hatását minimalni, hogy nagyon tömény belső oldatot használunk a referenciaelektrodban, ideálisan a minta ionerősségének legalább tízszeresét.

A 2.3.3.2. táblázat szemlélteti a sóhid és a mintaoldat összetételének hatását a diffúziós potenciálra. Jól látható, hogy mennyire fontos a diffúziós potenciál minimalálása érdekében, hogy a sóhidat (belső oldat) képező elektrolit koncentrációja nagy legyen, illetve az ellenionok mobilitása egyező legyen.

Folyadék folyadék határfelület	E_D (mV)
0,1 M KCl 0,1 M NaCl	6,4
3 M KCl 1 M NaCl	2,2
3 M KCl 0,1 M NaCl	-0,13
0,1 M KCl 0,1 M HCl	-27
3M KCl 0,1 M HCl	-4,5

2.3.3.2. táblázat. Különböző folyadék|folyadék határfelületen kialakult diffúziós potenciál

Ugyanakkor az is belátható, hogy még megfelelő sóhid kiválasztásakor is van valamennyi bizonytalanság a diffúziós potenciál értékében, amikor nagy koncentrációjú és nagyon eltérő mobilitású ellenionokat tartalmaz a minta.

2.3.4. Kettős sóhidas referenciaelektrod

A referenciaelektrod belső oldatának kiáramlása zavarhatja a potenciometriás mérést, például akkor ha:

- kis koncentrációban K^+ - vagy Cl^- -ionokat akarunk meghatározni,
- a belső oldat bármelyik ionja reagál a mérendő komponenssel,
- a belső és mintaoldat elegyedése során csapadék keletkezik, amely a diafragma pórusaiba kiválva ezeket eltömíti.

Ezekben az esetekben kettős sóhidas referenciaelektrodot alkalmazunk, amelyek felépítését a 2.3.1.1. ábra mutatja be. Tekintettel, hogy az elektrodpotenciál és a diffúziós potenciál állandó értéken való tartása miatt a KCl belső oldatot nem lehet lecserelni, a kettős sóhidas referenciaelektrod egy megfelelő köztes oldat (külső oldat) beiktatásával kerül el a belső és a mintaoldat elegyedéséből származó problémákat. A kettős sóhid elnevezést az indokolja, hogy így két sóhid alakul ki: egy a belső és külső oldat között, illetve egy másik a külső oldat és a mintaoldat között. A belső oldat marad a tömény KCl-oldat, míg a külső oldat tetszőlegesen megválasztható azzal a feltétellel, hogy az ellenionok mobilitása jó egyezést mutasson és a koncentrációjuk nagyobb legyen a mintaoldat ionerősségénél. Külső oldatként általában lítium-acetátot, kálium-nitrátot vagy ammónium-nitrátot alkalmazunk, amely sók ellenionjainak a mobilitása jó megközelítéssel egyező (2.3.3.1. táblázat).

2.4. INDIKÁTORELEKTRODOK

2.4.1. Potenciometriás indikátor elektrodok osztályozása

A potenciometriás indikátorelektrod a mérendő komponens aktivitását (koncentrációját) azok logaritmusával arányos potenciáljel kialakulásán keresztül jelzi. Az analitikai meghatározásokra alkalmazott indikátorelektrodok alapvetően két csoportba oszthatóak: az **elektroncsere-egyensúly** alapján és a **fázishatár-egyensúly (ioncsere-egyensúly)** alapján működő indikátorelektrodok. Emellett a potenciometriás elektrodok további szelektív membránok alkalmazásával közvetett módon alkalmassá tehetők különböző oldott gázok és enzimreakciókban részt vevő komponensek meghatározására.

Elektroncsere-egyensúlyon alapuló indikátorelektrodok	Fázishatár-egyensúlyon alapuló indikátorelektrodok (ionszelektív elektrodok)	Molekulaszelektív elektrodok
<p><i>Redoxielektrodok,</i> pl. Pt, Au</p> <p><i>Elsőfajú elektrodok,</i> <i>fém-elektrodok,</i> pl. Cu/Cu²⁺, Ag/Ag⁺</p> <p><i>Másodfajú elektrodok,</i> pl. Ag/AgCl, Cl⁻ Hg/Hg₂Cl₂, Cl, Hg/Hg₂SO₄, SO₄²⁻</p>	<p><i>Szilárd membránú ionszelektív elektrodok:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> H⁺ - szelektív üvegelektrod egyéb kationokra szelektív üvegelektrodok, pl. Na⁺, K⁺ Csapadék alapú elektrodok, pl. F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, CN⁻, SCN⁻, S²⁻, Cu²⁺ meghatározására <p><i>Folyadékmembrán ionszelektív elektrodok:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Szerves ioncserélő alapú elektrodok, pl. Ca²⁺, NO₃⁻, ClO₄⁻ meghatározására Ionofor alapú ionszelektív elektrodok, pl. K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, H⁺, Na⁺, Pb²⁺, Ag⁺ meghatározására Polikation és polianion elektrodok, pl. heparin meghatározására 	<p><i>Potenciometriás gázmolekula-szelektív elektrodok,</i> pl. CO₂, SO₂, NH₃</p> <p><i>Potenciometriás enzimelektrodok,</i> pl. karbamid</p>

2.4.1.1. táblázat. A potenciometriás indikátor elektrodok osztályozása

A következőkben néhány gyakorlati szempontból nagyon fontos elektron- és ioncsere-egyensúly alapján működő elektrodot mutatunk be.

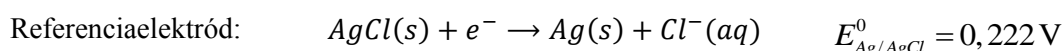
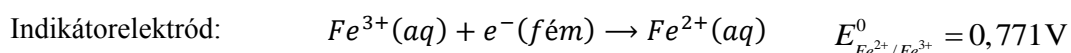
2.4.2. Elektroncsere-egyensúly alapján működő indikátorelektrodok

Redoxielektrodok

A redoxielektrodok leggyakrabban platina- vagy aranyelektrodok. Ezek az elektrodok ideális esetben mindössze elektronokat cserélnek a mintaoldat komponenseivel és ezért követelmény, hogy az elektrod olyan anyagból készüljön, amely elektromosan vezető és kémiaiilag inert, azaz nem lép reakcióba a mintában levő komponensekkel.

Redoxielektrodokat nem használunk direkt potenciometriás meghatározásra, hiszen bonyolult mintákban több redoxifolyamat is hozzájárulhat az elektrodpotenciál kialakulásához. Másrészt a redoxielektrodok potenciálját a legegyszerűbb esetben is az oldatban levő redoxirendszer határozza meg, amely eleve legalább két komponensből áll.

A redoxielektrodok működésének megértéséhez feltételezzük, hogy egy Fe²⁺- és Fe³⁺-tartalmú oldatba helyezünk a redoxielektrodot és a referenciaelektrodot. Ekkor a cellában a következő töltésátlépéssel végbemenő egyensúlyokat kell figyelembe venni:



A fenti redoxi egyensúlyoknak megfelelő elektrodpotenciálok:

$$E_{ref} = E_{Ag/AgCl}^0 - \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-},$$

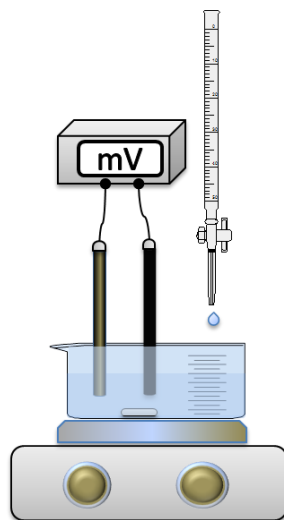
$$E_{ind} = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{Fe^{3+}}{Fe^{2+}}.$$

Tekintettel arra, hogy az Ag/AgCl referenciaelektród potenciálja állandó ($E_{ref} = 0,21V$, 3 M KCl belső oldat esetén), amennyiben olyan feltételeket biztosítunk, hogy a diffúziós potenciál elhanyagolható, a mért cellafeszültség egy adott hőmérsékleten csak a Fe^{3+}/Fe^{2+} arány változásától függ.

$$E = E_{ind} - E_{ref} = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{Fe^{3+}}}{a_{Fe^{2+}}} - E_{ref} = konst + \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{Fe^{3+}}}{a_{Fe^{2+}}}$$

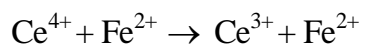
Egyértelmű, hogy a fenti egyenlet önmagában nem alkalmazható a redoxirendszer bármelyik komponensének közvetlen meghatározására, viszont alkalmas redoxi titrálások során a cellafeszültség nyomon követésére. Ennek megfelelően a redoxielektrodok elsődleges analitikai célú alkalmazása a redoxi titrálás végpontjának meghatározása. Potenciometriás indikálással (2.4.2.1. ábra) nemcsak a titrálás végpontját tudjuk meghatározni, mint például a redoxi indikátorként használt szerves redoxirendszerekkel, hanem a teljes titrálási görbét és ennek alapján az egyenértékpontot. Ez nagyobb biztonságot jelent a meghatározás pontosságát illetően és automatizálhatóvá teszi a titrálást. Az automata titrátorok precíziós pumpával adagolják a mérőoldatot és közben mérik a cellafeszültséget. A $\frac{dE_{cella}}{dV}$ érték alapján a rendszer automata módon szabályozza az adagolást. Az egyenértékponttól távol

nagyobb térfogategységeket adagol, de amikor a cellafeszültség-változás az adott térfogategységre nézve nőni kezd akkor csökkenti az adagolt mérőoldat térfogatát. Több pont felvétele az egyenértékpont körül értelemszerűen növeli a meghatározás pontosságát.

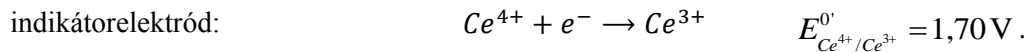
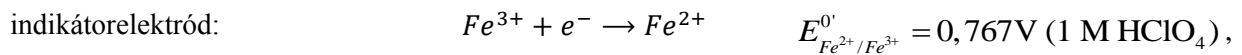


2.4.2.1. ábra. Mérési elrendezés potenciometriás titrálásokhoz

A redoxi titrálás menete és elve részletesen tárgyalva van a titrimetriás módszerek megfelelő fejezetében. Az alábbiakban csak az elektroanalitikai megközelítés sajátosságait tárgyaljuk egy példán keresztül. Kiindulásként használjuk az előbb leírt cellát azzal a különbséggel, hogy a cella egy Fe^{2+} -tartalmú mintaoldat Fe^{2+} -koncentrációját akarjuk meghatározni. Mérőoldatként használhatunk ismert koncentrációjú Ce^{4+} -oldatot, erősen savas közegben (1 M $HClO_4$) az alábbi redoxireakció szerint:



A két félcella reakció egyenletei ennek megfelelően:



Az $E_{Fe^{2+}/Fe^{3+}}^{0'}$ és $E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}}^{0'}$ az adott redoxirendszerek formál potenciálja 1 M perklórsav jelenlétében. A formál potenciál a Nernst-egyenlet állandója, amikor az elektromotoros erő összefüggésében koncentráció adatokat használunk:

$$E^{0'} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \gamma$$

Tekintettel arra, hogy a referenciaelektrod potenciálja nem függ a mintaösszetételtől, fontos átlátni, hogy két félcella reakció az indikátorelektrodon kerül egyensúlyba. **A két félcella potenciálja végig egyenlő a titrálás során és ezt a potenciál értéket veszi fel a Pt indikátorelektrod!**

$$E_{ind} = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^{0'} + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} = E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}}^{0'} + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Ce^{4+}]}{[Ce^{3+}]}$$

A mért cellafeszültség pedig: $E_{cella} = E_{ind} - E_{ref}$

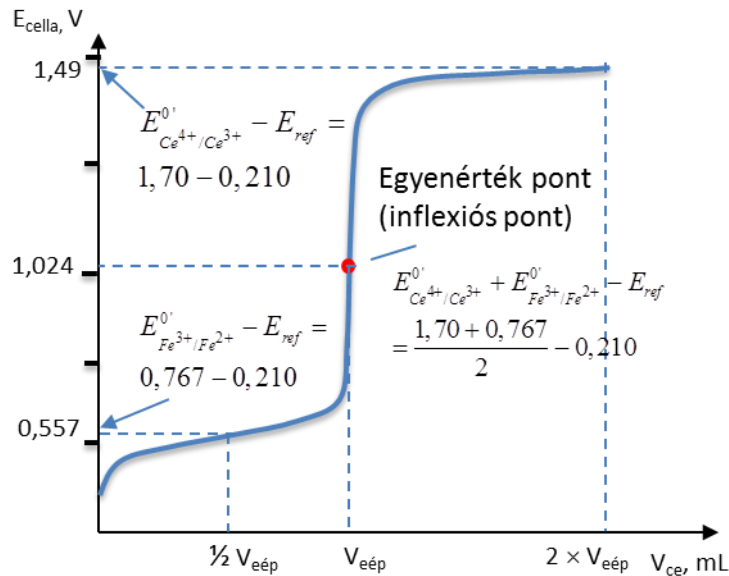
Ennek megfelelően a titrálás során változó Fe^{2+} -, Fe^{3+} -, Ce^{3+} -, Ce^{4+} -koncentrációkat a cellafeszültség alapján nyomon lehet követni. A 0%-os titráltsági foknak megfelelő potenciál értelmezése azonban problémát vet fel abból a szempontból, hogy az oldat még nem tartalmaz cériumot, illetve hogy a Fe^{3+} koncentrációja elvileg nulla. Ebben az esetben a Nernst-egyenlet alapján kiszámított cellafeszültség $-\infty$. Ez nyilván nem lehetséges, és a gyakorlatban mindig van egy nagyon kis mennyiségű Fe^{3+} az oldatban, amely a Fe^{2+} oxidációjából származik. Hogy pontosan mennyi Fe^{3+} van nem lehet megmondani, de a cellafeszültség nem lehet negatívabb, mint ami az oldószer (víz) redukciójához szükséges ($H_2O + e^{-} \rightarrow \frac{1}{2}H_2 + OH^{-}$). A potenciometriás titrálás során ábrázoljuk a cellafeszültség-értékeket az oldathoz adott mérőoldat kumulált térfogatának függvényében és meghatározzuk az így kapott titrálási görbe inflexió pontját (2.4.2.2. ábra).

Abban az esetben, ha az elektroncserélő komponensek sztöchiometriai együtthatója a két oldalon azonos, akkor három olyan pontot tudunk meghatározni a titrálási görbén, amelyeknél a cellafeszültséget a reagensek koncentrációjának ismerete nélkül is előre meg tudunk becsülni.

$$V = \frac{1}{2} V_e, \quad E_{cella} = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^{0'} + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} - E_{ref} = E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^{0'} - E_{ref}$$

$$V = V_e, \quad E_{cella} = \frac{E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}^{0'} + E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}}^{0'}}{2} - E_{ref}$$

$$V = 2 \times V_e, \quad E_{cella} = E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}}^{0'} + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Ce^{4+}]}{[Ce^{3+}]} - E_{ref} = E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}}^{0'} - E_{ref}$$

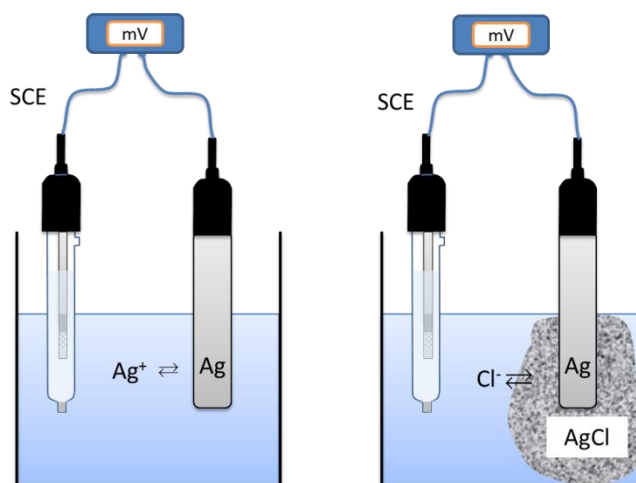


2.4.2.2. ábra. Potenciometriás titrálási görbe a Fe^{2+} tartalmú minta Ce^{4+} -mérőoldattal történő meghatározása esetében

A gyakorlatban a redoxielektrodok nemcsak bizonyos komponensek mennyiségi meghatározására alkalmazzák, hanem a minta redukciós-oxidációs tulajdonságainak jellemzésére, pl. talaj-, üledék-, élelmiszerminták redoxi potenciáljának meghatározására. Ezek a potenciál értékek információt adnak a közeg anaerob vagy aerob mivoltáról, és ezáltal segítséget annak megállapítására, hogy egy adott alkotó oxidált vagy redukált állapotban van jelen. A redoxi potenciál nagymértékben befolyásolja például a kőolaj kialakulását is. Erősen redukáló körülmények ugyanis a biokémiai hidrogénezési folyamatoknak kedveznek, amelynek során szerves anyagból szénhidrogének keletkeznek. Ugyanakkor oxidáló körülmények között a szerves anyag mikroorganizmusok által katalizált oxidációja a meghatározó folyamat, amelynek végterméke a CO_2 és H_2O .

Első- és másodfajú elektródok

Az elsőfajú elektródok esetében a fémelektrod a saját ionjának oldatába merül, pl. Ag-huzal $AgNO_3$ oldatban. Bár ezek az elektródok is redoxifolyamaton alapulnak, az említett példa esetében $Ag^+(aq) + e^- \rightarrow Ag(s)$, a redoxielektrodoktól eltérően ahol csak elektronok lépik át az elektród/oldat fázishatárt, az elsőfajú elektródok esetében ionok is cserélődnek a fázishatáron (lásd 2.4.2.3. ábra).



2.4.2.3. ábra. Elsőfajú (Ag/Ag^+) és másodfajú ($Ag/AgCl, Cl^-$) indikátorelektrodokon alapuló potenciometriás mérési elrendezések

A ezüstelektrod egy megfelelő referenciaelektroddal együtt, például egy 1 M KNO₃ külső oldatot tartalmazó kettős sóhidas telített kalomelektroddal, alkalmas az ezüstion-aktivitás meghatározására.

A cellafeszültség elhanyagolható diffúziós potenciál esetében:

$$E = E_{ind} - E_{ref} = (E_{Ag/AgCl}^0 + \frac{RT}{F} \ln a_{Ag^+}) - E_{SCE}$$

Célszerű a természetes logaritmus helyett tízes alapú logaritmust alkalmazni és az $\frac{RT}{F}$ tagot is számszerűsíteni. A természetes logaritmus tízes alapú konverziója ($\log x = \frac{\ln x}{\ln 10} = \frac{\ln x}{2,303}$) miatt a

$\frac{RT}{2,303 \times F}$ tag értékét kell kiszámítani, amelynek értéke 25 °C-on (298,15 K) 0,05916 V. Ez azt jelenti, hogy minden egyes nagyságrendnyi aktivitásváltozás 59,16/z mV változást okoz az elektródpotenciál értékében.

A cellafeszültség ebben az esetben kifejezhető az Ag⁺ aktivitásának függvényében.

$$E = (0,799 + 0,05916 \lg a_{Ag^+}) - 0,241 = 0,558 + 0,05916 \lg a_{Ag^+}$$

Az elsőfajú elektrodok azonban, mint minden fémelektrod redoxi érzékenyek, azaz komplex mintákban könnyen előfordulhat, hogy nem csak az ezüstion-aktivitás az egyedüli elektródpotenciál meghatározó komponens. Ezért a nagyon egyszerű eseteket kivéve az elsőfajú elektrodokat elsődlegesen komplexometriás, illetve csapadékos titrálások végpontjelzésére alkalmazzuk. Ilyenkor olyan fémelektrodot választunk ki, amelynek saját ionja részt vesz a komplex vagy csapadékképződésben. Az előbb bemutatott ezüstelektrod alkalmazható például végpont meghatározásra a cianidion, vagy halogenidionok argentometriás titrálása esetében.

A másodfajú elektrodok referenciaelektrodként való alkalmazását részletesen bemutattuk. Az elektródpotenciál állandó értékének biztosításához, az ezüst/ezüst-klorid és telített kalomelektrod esetében szükség volt a kloridion-aktivitás állandó értéken tartásához. Értelemszerűen, ha a kloridion koncentrációt változtatjuk, akkor az elektródpotenciál is változik és ez felhasználható az említett elektrodok esetében a kloridion meghatározására.

2.4.3. Fázishatár-egyensúly alapján működő indikátorelektrodok (ionszelektív elektrodok)

Elektrodválasz

A fázishatár-egyensúly alapján működő elektrodok alapvetően különböznek a korábban tárgyalt redoxielektrodokétól, ugyanis nem egy redoxireakció határozza meg az elektródpotenciált, hanem az elektrod-mintaoldat határfelületen fellépő ionsere-egyensúly. Ennek megfelelően elérhető, hogy az elektrod nagy szelektivitással válaszoljon egy adott ionra, amely az **ionszelektív elektrod** elnevezést indokolja. Az ionszelektív elektrodok érzékelő része az ionszelektív membrán, amelynek alapján megkülönböztetünk **folyadékmembrán**-elektrodokat és szilárd membránú ionszelektív elektrodokat. Az ionszelektív elektrodok működési mechanizmusát a továbbiakban az analitikai alkalmazás szem előtt tartásával inkább intuitív megközelítés keretében kívánjuk bemutatni, mintsem minden szempontból egzakt, de nehezen érthető termodinamikai megközelítésben. Az ionszelektív membránok általában felfoghatóak mint kis kapacitású ioncserélők, azaz rögzített töltéssel rendelkeznek a membránfázisban, míg mobilis ellenionjaik cserélhetőek a mintaoldat azonos töltéselőjelű ionjaival. Az ioncserélő permanens töltése elektrosztatikus okok miatt kizárja a vele megegyező töltéselőjelű ionok membránba való kerülését, ezért az ilyen típusú membránokat anion vagy kation permszelektív membránoknak hívjuk attól függően, hogy kation- vagy anioncserélő tulajdonságokkal rendelkeznek a membrán. A

fázishatár-egyensúly elnevezést az indokolja, hogy az ioncserélő töltésével ellentétes töltéselőjelű mérendő ionra nézve ioncsere-egyensúly alakul ki a mintaoldat és az ionszelektív membrán között. Nyilván az ion „affinitása” a két fázishoz eltérő, és különböző mértékben oszlik el a membrán- és az oldatfázis között. Tekintettel arra, hogy az ion elektromos töltéssel rendelkezik, az ioncsere-egyensúly töltésszétválást (töltéskülönbséget) hoz létre atomi távolságokon a membrán|mintaoldat határfelületen. Ugyanakkor a töltésszétválás minden esetben potenciálkülönbség kialakulásával jár együtt, azaz egy fázishatár potenciál kialakulásához vezet (E_{FH}).

A fázishatár potenciál ionaktivitás függésének levezetéséhez felírjuk az ion elektrokémiai potenciálját a mintaoldatban és a membránban, amelynek általános képlete a következő:

$$\mu_I = \mu_I^0 + RT \ln a_I + zF\phi.$$

ahol μ_I az I ion elektrokémiai potenciálja,

μ_I^0 az I ion standard kémiai potenciálja,

ϕ az I ion elektromos potenciálja.

Termodinamikai egyensúlyban a I ion elektrokémiai potenciálja a két fázisban egyenlő, azaz $\mu_{I,m} = \mu_{I,o}$, ahol m és o indexek az ionszelektív membrán, illetve a mintaoldat fázisára vonatkoznak.

$$\mu_{I,m}^0 + RT \ln a_{I,m} + zF\phi_m = \mu_{I,o}^0 + RT \ln a_{I,o} + zF\phi_o.$$

Ebből az összefüggésből a fázishatár potenciál kifejezhető az alábbiak szerint:

$$E_{FH} = \phi_m - \phi_o = \frac{\mu_{I,o}^0 - \mu_{I,m}^0}{zF} + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{I,o}}{a_{I,m}},$$

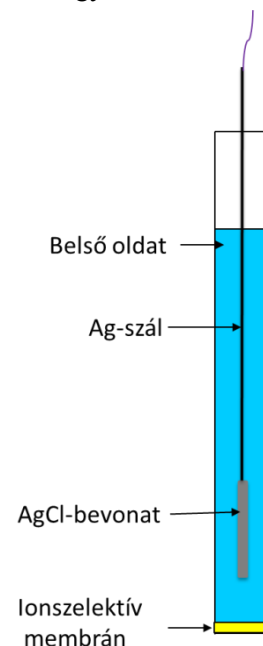
ahol, ϕ_m , ϕ_o az elektromos potenciál a membrán és mintaoldat fázisában.

Az ionszelektív elektród potenciálja és a meghatározandó ion aktivitása közötti összefüggés megállapításához szükséges az ionszelektív elektródok általános felépítésének ismertetése is (lásd 2.4.3.1. ábra). Látható, hogy a leggyakrabban alkalmazott konstrukció esetén a membrán a mintaoldat mellett az ún. belső oldattal is érintkezik. A belső oldat kloridionokat tartalmaz, hogy a belemerülő Ag/AgCl-elektrod potenciálja állandó legyen és emellett még azt az iont is tartalmazza (kb. 10^{-3} - 10^{-2} M koncentrációban), amelyre az ionszelektív membrán elsődlegesen válaszol. Tehát a membrán belső oldalán is kialakul egy fázishatár potenciál, amely teljesen analóg a mintaoldat|membrán határfelületre felírttal, azzal a lényeges különbséggel, hogy a meghatározandó ion aktivitása konstans a belső oldatban.

Tulajdonképpen a mérés során két referenciaelektrod között, amelyek közül az egyik a mintaoldatba a másik a belső oldatba merül, az ionszelektív membrán potenciálját határozzuk meg. A **membrán potenciál (E_M)** a fentieknek megfelelően egy konstans és egy változó potenciáltként összege. A konstans potenciál tag tartalmazza a belső oldat|membrán határfelületi potenciált és a referencia elektródok potenciálját, míg a változó tag a mérendő ion aktivitásától függő potenciál mintaoldat|membrán határfelületen kialakult fázishatár potenciált:

$$E_M = E_{konst} + E_{HF}, \text{ azaz}$$

$$E_M = E_{konst} + E_{HF} = E_{konst} + \frac{\mu_{I,o}^0 - \mu_{I,m}^0}{zF} - \frac{RT}{zF} \ln a_{I,m} + \frac{RT}{zF} \ln a_{I,o}.$$

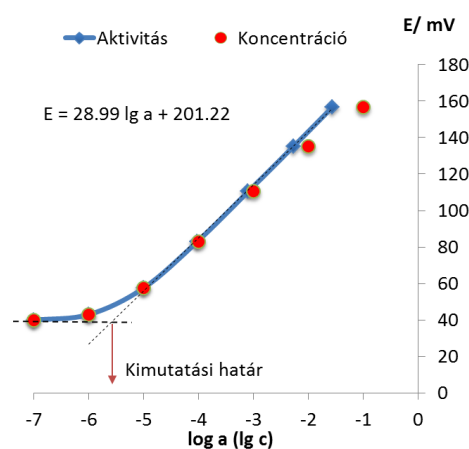


2.4.3.1. ábra. Az ionszelektív elektródok tipikus felépítése

Mint látszik az egyenlet első két tagja egyértelműen független a mintaoldat összetételétől és amennyiben az ion aktivitása membránban is állandó, akkor az ionszelektív elektród Nernsti választ ad a meghatározandó ion mintaoldatbeli aktivitásának függvényében. Az ionszelektív membránok pontos összetételének hiányában első látásra nem könnyű megítélni, hogy $a_{i,m}$ a mintaoldat összetételétől független-e vagy sem, de az elektroneutralitás tétele alapján egyértelmű, hogy az összkoncentrációjának a membrán tömegében meg kell egyeznie az ioncserélő által biztosított ellentétes előjelű töltések koncentrációjával. Az utóbbinak a koncentrációja viszont állandó.

Ennek megfelelően, minden konstans potenciál tagot az E^0 tagban összevonva a következő általános egyenletet kapjuk, amely leírja az ionszelektív elektródok potenciál választát:

$$E_M = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln a_{i,o}$$



2.4.3.2. ábra. Egy kalciumion-szelektív elektród kalibrációs görbéje a kalciumion-aktivitása és koncentrációja függvényében. A kalibrálást nagyságrendenként növekvő koncentrációjú kalcium-klorid oldatokkal végeztük

Figyelembe véve a tízes alapú logaritmus alkalmazásának előnyeit, és hogy az elektród meredeksége ($2,303 \frac{RT}{zF} = 59,16 \text{ mV}$, 25 °C-on) nem minden esetben elméleti, a következő általános kifejezéshez jutunk:

$$E = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg a_i$$

ahol S a meredekség gyakorlati körülmények között.

A logaritmikus tag együtthatója függ az ion töltésszámától (és ennek megfelelően lehet pozitív vagy negatív is), illetve a hőmérséklettől. Az E^0 és az S meghatározását kalibrációval végezzük, amelynek során a meghatározandó ion ismert aktivitású oldataiba helyezve az elektródokat, meghatározzuk a cellafeszültséget. Két pontos kalibráció elég az egyenlet két paraméterének (E^0 és S) meghatározásához, amely alapján a mintaoldatban mért cellafeszültségből kiszámítható az ion aktivitása. Ugyanakkor a legtöbb esetben fontos meghatározni az elektród mérési tartományát több, pontos kalibrációval. A 2.4.3.2. ábra egy kalciumion-szelektív elektród kalibrációs görbéje (E vs. $\lg a$), amely során a kalibrációt nagyságrendenként növekvő koncentrációjú kalcium-klorid oldatokkal végeztük. Jól látható, hogy kis koncentrációknál (általában 10^{-5} - 10^{-7} M között), a görbe elveszti a linearitását és egy adott koncentrációnál kisebb értékeknél a cellafeszültség már nem változik. A Nernsti meredekségű lineáris szakasz és az állandó cellafeszültségű szakasz meghosszabbításának

metszéspontja az elektród **kimutatási határa** (2.4.3.2. ábra). A kalibráció során mért cellafeszültségeket a 2.4.3.2. ábrán ábrázoltuk mind az aktivitás, mind pedig a koncentráció függvényében. Az különböző Ca^{2+} -koncentrációjú kalibráló oldatok ionaktivitását a Debye–Hückel-egyenlet szerint meghatározott aktivitási együtthatók segítségével számoltuk ki. A kalibráló oldatok ionerősségét a bemutatott esetben csak a kalcium-klorid koncentrációja határozza meg, és ezáltal az aktivitási együttható értéke minden kalibráló oldatnál más. Ennek megfelelően egyértelmű eltérés van a két kalibrációs görbe meredeksége között a nagy, 10^{-3} M-nál nagyobb koncentrációk esetében. A koncentráció függvényében ábrázolt görbének a meredeksége mindig kisebb, mint a Nernsti meredekség. A különbség viszont kisebb koncentrációk esetében eltűnik ($a \approx c$).

Amennyiben a korább leírt módon a kalibráló oldat ionerősségét nagy konstans értékre állítjuk be, akkor az aktivitási együttható (γ) minden oldat koncentrációnál azonos és

$$E = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg a_i = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg c_i \gamma_i = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg \gamma_i + \frac{S}{z_i} \lg c_i,$$

$$\text{azaz } E = E^{0'} + \frac{S}{z_i} \lg c_i,$$

$$\text{ahol } E^{0'} = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg \gamma_i.$$

Könnyen átlátható, hogy amennyiben konstans ionerősségű oldatokkal kalibrálunk, az ionkoncentráció függvényében felvett kalibrációs görbe is Nernsti meredekségű lesz és mindössze annyiban tér el az aktivitás függvényében felvett görbétől, hogy más a tengelymetszet értéke, amelynek meghatározása amúgy is a kalibráció feladata.

A direkt potenciometriás meghatározások esetében gyakran alkalmazzuk a standard addíciós módszert. A standard addíció esetében a cellafeszültséget meghatározzuk az ismeretlen koncentrációjú mintában (c_{ism}), majd ismert mennyiségű és térfogatú standard oldat hozzáadása után. A mintaoldat cellafeszültsége:

$$E_{ism} = E^{0'} + \frac{S}{z} \lg c_{ism},$$

amely az addíció után:

$$E_{ism+std} = E^{0'} + \frac{S}{z} \lg c_{ism+std},$$

ahol

$$c_{ism+std} = \frac{c_{ism} V_{ism} + c_{std} V_{std}}{V_{ism} + V_{std}}.$$

A két egyenlet felírható úgy is, hogy:

$$c_{ism} = 10^{\frac{E_{ism} - E^{0'}}{S}},$$

$$\frac{c_{ism} V_{ism} + c_{std} V_{std}}{V_{ism} + V_{std}} = 10^{\frac{E_{ism+std} - E^{0'}}{S}}.$$

Egymással elosztva az egyenleteket a konstans potenciál tag kiesik és a következő kifejezéshez jutunk:

$$(V_{ism} + V_{std}) \times 10^{\frac{E_{ism+std} - E_{ism}}{S}} = V_{ism} + \frac{1}{C_{ism}} c_{std} V_{std}$$

Amennyiben az elektródválasz meredekségét ismerjük, akkor az ismeretlen koncentrációt kiszámíthatjuk.

A standard addíciós módszert akkor használjuk, ha nagy a mintaoldat ionerőssége, és amint azt korábban is említettük, az ionerősség külső beállítása nem lehetséges, másrésztől az esetleges mátrix-effektusok kiküszöbölésére. Amennyiben a mintaoldat és a kalibráló oldat azonos koncentrációban tartalmazza a mérendő iont, de a mért cellafeszültség-értékek mégis eltérőek, akkor nagy valószínűséggel a minta egyéb komponensei is befolyásolják a mért jelet. Az aktivitást befolyásoló hatáson túlmenően a minta összetételének hatása jelentkezik azáltal is, hogy egyéb komponensei kölcsönhatnak a mérendő ionnal (mátrixhatás). A mátrixhatásra jellemző példa a kalciumion koncentrációjának meghatározása vérben, amikor is a fehérjékhez kötődő kalciumionokat nem, csak a szabad kalciumionokat tudjuk meghatározni.

Szelektivitás

Joggal felmerülhet a kérdés, miért pont egy adott ionra válaszolnak az ionszelektív membránok. Ennek kémiai okait a konkrét ionszelektív elektród típusoknál fejtjük majd ki, de általánosan igaz, hogy az ionszelektív elektródok nem ideálisan szelektívek, azaz bizonyos mértékben válaszolhatnak más ionokra is. Ennek megfelelően az ionszelektív elektródok egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy milyen szelektivitással rendelkeznek az elsődleges (mérendő) ionra nézve egyéb zavaró ionok jelenlétében, amely tulajdonságukat a szelektivitási tényezővel számszerűsítjük. A zavaró ionok hozzájárulását a mért cellafeszültséghez a leggyakrabban a Nikolsky fél-empirikus egyenlettel írjuk le:

$$E = E^0 + \frac{0,05915}{z_I} \lg \left(a_I + \sum_J K_{IJ}^{pot} a_J^{z_I/z_J} \right),$$

ahol K_{IJ}^{pot} a potenciometriás szelektivitási tényező (a továbbiakban szelektivitási tényező),

I az elsődleges ion,

J a zavaró ion.

Σ az oldat minden kationjára vonatkozik, ha kation permszelektív a membrán (kationcserélő), illetve minden anionjára, ha anion permszelektív membránról van szó. A szelektivitási tényező tulajdonképpen súlyozó tényező amely megszabja, hogy milyen mértékben kell a logaritmus tagban az adott zavaró iont figyelembe venni. A szelektivitási tényező értelemszerűen mindig pozitív és értéke 0 és 1 között van. Az egyszerűség kedvéért legyen $z_I = z_J = 1$. Ebben az esetben, ha J zavaró ionra a szelektivitási tényező 1, akkor ugyanolyan mértékben határozza meg az elektródpotenciált, mint az elsődleges ion. Ha az értéke 10^{-4} akkor tízezerszer kisebb mértékben kell figyelembe venni a zavaró ion, mint az elsődleges ion. Ha viszont nagyobb, mint 1 akkor az elektród szelektívebb a zavaró ionra mint az elsődleges ionra!

Lássuk a szelektivitási tényező értelmezését egy konkrét példán keresztül. Egy káliumion-szelektív elektród nátriumion szelektivitása 10^{-4} és egy olyan oldatba mérünk, amely 0.1 M nátriumiont és 10 mM káliumiont tartalmaz. Az aktivitást koncentrációval közelítve a logaritmus tag $0,01 + 0,1 \times 10^{-4} = 0,01 + 10^{-5} \approx 0,01$, azaz a nátriumion zavarás elhanyagolható mértékű, mert ez 10^{-5} M káliumion-koncentrációnak felel meg a szelektivitási tényezővel való súlyozás után, ami elhanyagolható a 0.01 M káliumion koncentráció mellett. Tehát hiába nagyobb a zavaró ion koncentrációja, mint a mérendő ioné, a szelektivitás elegendő ahhoz, hogy jelenlétében a mérendő ion határozza meg az elektródpotenciált. Általánosítva a gyakorlatban akkor lehet az elsődleges iont szelektíven meghatározni ha $K_{IJ}^{pot} a_J^{z_I/z_J} \ll a_I$.

A szelektivitási tényező értékét a leggyakrabban az ún. **különoldatos módszerrel** határozzuk meg. Lényege, hogy egy csak elsődleges, illetve egy csak zavaró iont tartalmazó oldatban külön-külön

meghatározzuk a cellafeszültséget. Általában a két oldat koncentrációja egyenlő (leggyakrabban 0,1 M).

$$E_I = E^0 + \frac{S}{z_I} \lg a_i,$$

$$E_J = E^0 + \frac{S}{z_J} \lg(K_{IJ}^{pot} a_J^{z_I/z_J}).$$

A két egyenletből kifejezhetjük a szelektivitási tényezőt:

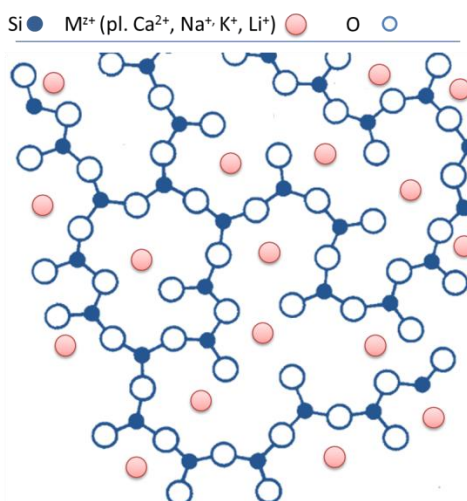
$$\log K_{IJ}^{pot} = \frac{E_J - E_I}{S} + \lg\left(\frac{a_I}{a_J^{z_I/z_J}}\right).$$

Látható, hogy K_{IJ}^{pot} tulajdonképpen annak az $\frac{a_I}{a_J^{z_I/z_J}}$ aránynak felel meg, amelynél a zavaró és az elsődleges ion oldatában mért cellafeszültségek megegyeznek.

2.4.4. Szilárd membránú ionszelektív elektródok

Üvegelektrod

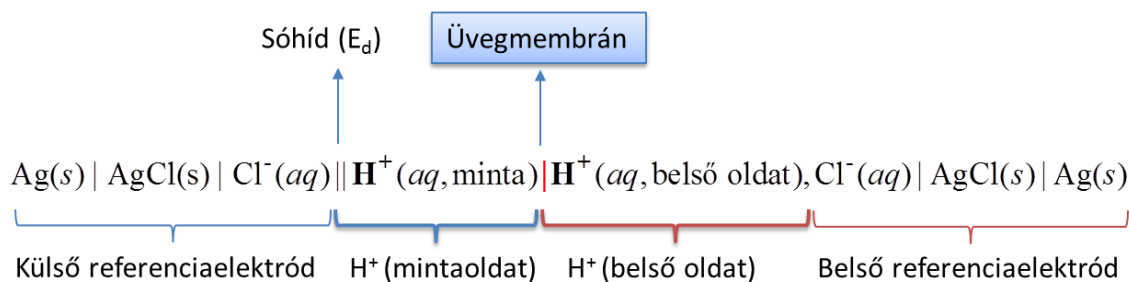
A pH-mérésre alkalmazott üvegelektrod a legelterjedtebb ionszelektív elektród. A biológus Max Cremer már 1906-ban felfigyelt arra, hogy az üvegfalal (membránnal) érintkező oldat pH-változása feszültséget generál a membránon keresztül. Klemensiewicz nevéhez fűződik a jelenleg is általánosan használt, üvegfúvással készült üveggömb alakú membrán bevezetése 1909-ben, amely az első funkcionális pH-érzékeny üvegelektrod része volt. A pH-érzékeny üvegmembrán tulajdonképpen háromdimenziós, szabálytalan szilikát váz, amelynek negatív töltéseit fémkationok semlegesítik. Ennek megfelelően az üvegmembrán kationcserélő tulajdonságokkal rendelkezik. Az ioncserét és az ionos vezetést nagymértékben elősegíti az üvegmembrán oldattal érintkező oldalán a hidratált üvegréteg kialakulása.



2.4.4.1. ábra. Az üvegmembrán szerkezetének sematikus ábrázolása

Ez a hidratált réteg ~10 nm vastagságú, amely elhanyagolható az üvegmembrán teljes vastagságához képest. A hidratált réteg átjárható a protonok számára, és így ebben a rétegben a H^+ és az üvegben levő

fémionok között ioncsere-egyensúly jön létre. Nyilvánvaló, hogy a mérés során az áramkörben nagyon kis áramnak át kell haladnia, melyet az üvegen keresztül a Na^+ -ionok biztosítanak. Kísérletileg bizonyított, hogy a H^+ nem képes áthatolni a membránon keresztül, és a nem hidratált üvegréteg abban is különbözik a hidratált rétegtől, hogy a szilikát váz negatív töltését gyakorlatilag csak a fémionok kompenzálják. A pH-érzékeny üvegelektrod szelektív H^+ -válaszának magyarázata abban rejlik, hogy a hidratált üvegréteg elsődlegesen oxóniumionokat képes megkötni. Az üveg összetételének változtatásával lehet az üvegelektrod H^+ -szelektivitását növelni, vagy akár egyéb ionra (pl. Na^+ és NH_4^+) is érzékenyvé tenni, de az utóbbi elektrodoknak a szelektivitása és jelentősége meg sem közelíti pH-érzékeny üvegelektrodokét. Az üvegmembrán pontos elemi összetétele a gyártók féltve őrzött titka, ugyanis alapvetően befolyásolja az elektrod szelektivitását, illetve a lineáris Nernsti tartományát. Csak szemléltetésképpen egy tipikus összetétel pH-érzékeny üvegelektrodra: 10% CaO -10% Li_2O -80% SiO_2 , nátriumionra: 11% Na_2O -18% Al_2O_3 -71% SiO_2 és ammóniumra: 27% Na_2O -4% Al_2O_3 -61% SiO_2 .



2.4.4.2. ábra. Az üvegelektrodot tartalmazó potenciometriás mérőcella felírása

Az üvegmembrán, amelynek tipikus vastagsága 100 μm , két oldatteret választ el egymástól: a belső referenciaelektrod oldatát és a mintaodatot. Mindkét oldatterben egy-egy ezüst/ezüst-klorid referenciaelektrod merül, amelyeket a feszültségmérőhöz csatlakoztatva mérjük a cellafeszültséget. A cellafeszültség értékéhez minden fázishatár potenciálja hozzájárul (| fázishatár, || folyadék-folyadék határfelület). Ugyanakkor, ha figyelembe vesszük, hogy a két referenciaelektrod potenciálja állandó, a diffúziós potenciál értékét minimáljuk, a belső oldat H^+ -aktivitása nem változik, könnyen belátható, hogy a cellafeszültség értékének változása kizárólag a mintaoadat H^+ -aktivitásának függvénye, az üvegmembrán|mintaoadat fázishatár potenciáljának változásán keresztül (lásd korábbi fejezet).

$$E = E^0 + S \lg a_{\text{H}^+}$$

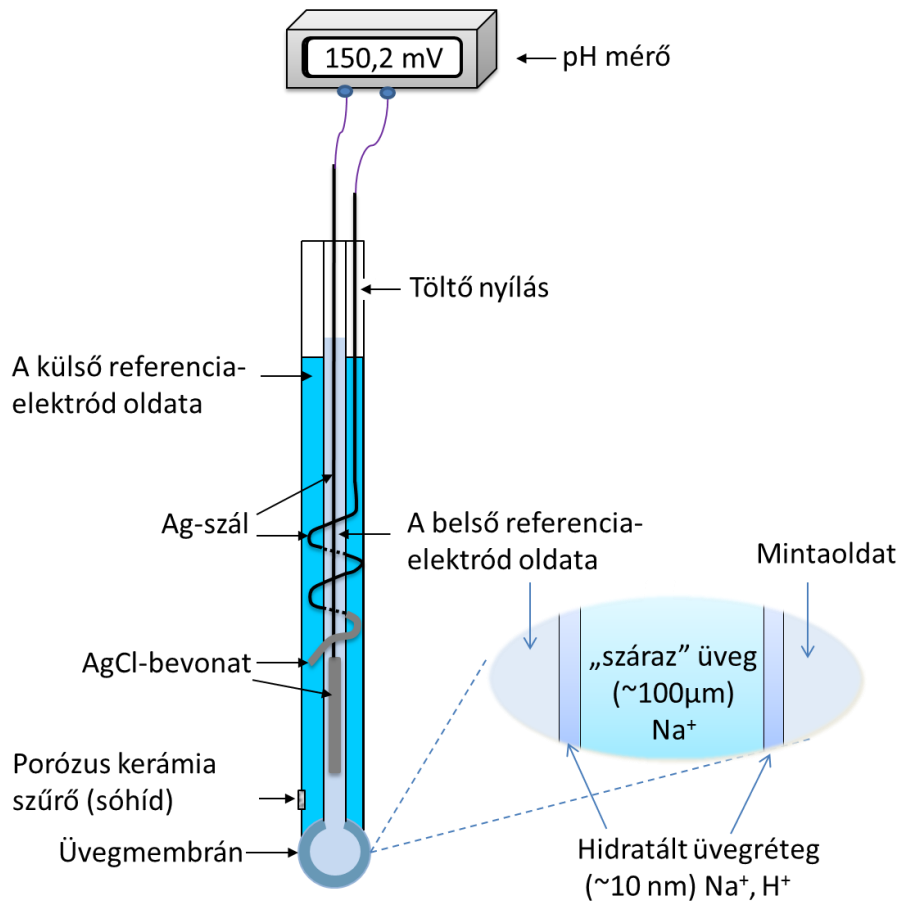
Behelyettesítve, hogy $\text{pH} = -\lg a_{\text{H}^+}$ megkapjuk a cellafeszültség pH függését:

$$E = E^0 - S \text{pH}$$

Ideális esetben az S értéke 59,16 mV 25 °C-on és ennek megfelelően minden egységnyi pH-változás 59,16 mV változást okoz a mért cellafeszültségben. A legjobb üvegelektrodok esetében a lineáris Nernsti tartomány nullától 14-es pH-ig terjed.

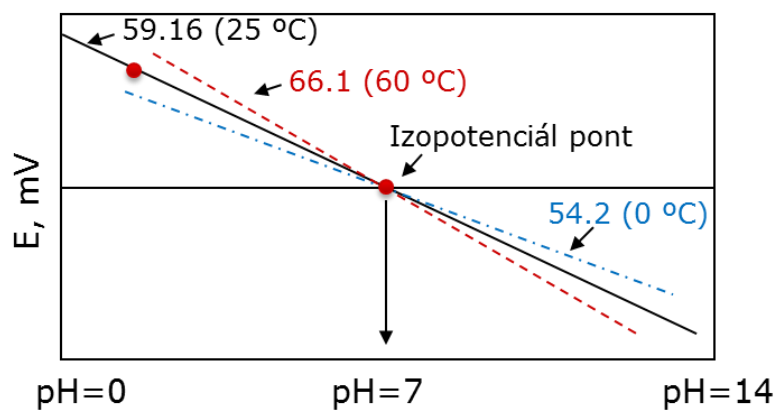
A gyakorlatban a könnyebb kezelhetőség és kisebb helyigény érdekében az üvegelektrodot és a külső referenciaelektrodot egy elektrodtestbe integrálják. A 2.4.4.3. ábra a leggyakrabban használt ún. kombinált üvegelektrod felépítését mutatja be. Az elektrod tulajdonképpen két koncentrikusan elhelyezett üvegtestből áll. A belső üvegtest aljára van forrasztva üvegtechnikai eljárással a pH-érzékeny üveggömb és tartalmazza a belső oldatot, illetve a belső referenciaelektrodot. Feltöltés után a belső teret légmentesen lezárják, hogy a belső oldat pH-ja és Cl^- -aktivitása ne változzon a légköri széndioxid beoldódása, illetve esetleges oldatpárolgás miatt. Tekintettel arra, hogy az üvegmembránon keresztül gyakorlatilag nincs anyagtranszport, a belső oldat összetétele állandó marad és nincs szükség oldatcserére vagy pótlásra.

A külső hengeres üvegtest alsó része a belső üvegtesthez való forrasztással le van zárva. Az így kialakult térben található külső referenciaelektród, amely tartalmazza a belső üvegtest köré feltekert Ag/AgCl-szálat, a külső referencia oldatot és a sóhídat. A külső referenciaelektród a sóhídon keresztül érintkezik a mintaoldattal (bal oldali tag) majd az áramkör az üvegmembránon és belső oldaton keresztül a belső referenciaelektrodon (jobb oldali tag) zárul. A külső oldat a referenciaelektrodoznál leírt módon cserélhető és pótolható a külső üvegtesten kialakított nyíláson keresztül.



2.4.4.3. ábra. Potenciometriás mérési elrendezés kombinált üvegelektród esetében

Az analitikai gyakorlatban általában a minta pH-értékének közvetlen kijelzését lehetővé tevő pH-mérőkkel dolgozunk. Első lépésben ezeket a készülékeket (elektrodokat) kalibrálni kell, amit általában két standard pufferoldattal végezzük el, úgy hogy ezek pH-ja közrefogja az ismeretlen oldat pH-ját. A standard pufferoldatok pH-ját megadva a műszer a mért cellafeszültség értékekből kiszámítja a kalibrációs görbe meredekségét és a tengelymetszetet. A kombinált elektrodok belső és külső oldata általában úgy van megválasztva, hogy pH = 7 értéknél, azaz a mérési tartomány közepén, a mért cellafeszültség nulla legyen és független legyen a hőmérséklettől (izopotenciál pont). Ezért általában a két kalibráló oldatok közül az egyik 7-es pH-jú, ugyanis ezt a pontot terheli a legkisebb hiba.



2.4.4.4. ábra. Az üvegelektrod kalibrációs görbéje különböző hőmérsékleten

A pH-mérés megfelelő alkalmazásához fontos ismerni a pH-meghatározás pontosságát befolyásoló tényezőket:

- A pH-meghatározás nem lehet pontosabb, mint a kalibráláshoz használt standard pufferoldatoké (tipikusan 0.01 pH-egység).
- Még az azonos pH-jú, de különböző ionerősségű oldatok esetében is előfordulhat, hogy az eltérő értékű diffúziós potenciál miatt a mért cellafeszültség (pH-) értékek különböznek. Természetesen a kombinált üvegelektrod sóhídja úgy van összeállítva, hogy a diffúziós potenciált minimálja, de még így is a diffúziós potenciál bizonytalansága körülbelül 0.01 pH-egység.
- Nagyon lúgos oldatokban, ahol a H^+ -aktivitás nagyon kicsi és a Na^+ -koncentráció nagy, alkáli hiba léphet fel, azaz kisebb pH-t mérünk, mint amennyi az a valóságban. Ez a jelenség az üvegelektrod nem megfelelő szelektivitásával magyarázható, azaz a nátriumion is potenciál meghatározóvá válik.
- Nagyon savas oldatokban a mért pH nagyobb lehet, mint a valós pH (savhiba).
- Időt kell hagyni, hogy az elektrod egyensúlyba kerüljön a mintaoldattal. Jól pufferolt oldatok esetében ez pár másodperc, de nem pufferolt/kis ionerősségű oldatok esetében több percet is igénybe vehet.
- Ugyanígy a „zsíros” szennyeződések az üvegmembrán felületén (pl. ha megfogjuk a membránt, vagy hidrofób komponenseket tartalmazó mintákban való mérés eredményeként) is megnövelhetik a beállási időt. Ebben az esetben kizárólag az üvegmembránt a megfelelő oldószerrel megtisztítjuk, majd vizes oldatban kondicionáljuk az elektrodot.
- Nem szabad pH elektrodokat szárazon vagy nem vizes oldatba tárolni. A kiszáradt elektrodot több óráig kell áztatni, amíg újra megfelelő pH választ nem ad.
- A kalibrálást ugyanazon a hőmérsékleten kell végezni, mint a pH-mérést. A pH-mérők általában rendelkeznek beépített hőmérsékletmérő szenzorral, illetve hőmérséklet-korrektúrával, de általában ezzel csak a meredekség hőmérséklet függését lehet korrigálni. Emellett azonban a kalibráló pufferek és a mintaoldat pH-ját is befolyásolhatja a hőmérséklet.

Mindezek alapján egyértelmű, hogy egy oldat pH-értékét általában nem lehet $\pm 0,02$ pH-egységnél pontosabban meghatározni, ami az a_{H^+} értékben $\pm 4,8\%$ hibát jelent ($\pm 1,2$ mV). Ugyanakkor a pH-változás közel ezred pH-egység pontossággal is mérhető.

Az üvegelektrodokat nagyon sok kialakításban gyártják az adott analitikai feladat követelményeinek megfelelően. Gyártják miniaturizált formában kis térfogatú minták analizésére és ezáltal lehetőséget

adva pl. mikrotiter tálcák üregeiben, NMR csövekben az oldat pH-jának meghatározására. Emellett az üvegmembrán lehet kúpos-hegyes alakú, pl. húsminták, sajtok, kenyerek pH-értékének meghatározására, vagy éppen lapos felületű, pl. tenyésztő tálcák, gélek pH-jának meghatározására. Az üvegmembrán mellett a sóhíd (diafragma) kiképezése is a mintaoldat tulajdonságának megfelelően történik. Külön elektródok vannak kereskedelmi forgalomban kis ionerősségű oldatokban, illetve viszkózus és a sóhidat könnyen elszennyező mintákban való mérésre.

VIDEÓ



2.4.4.1. videó: pH mérés

Csapadék alapú elektródok

A **csapadék alapú elektródok** olyan ionszelektív elektródok, amelyek érzékelő része egy-, vagy polikristály formájában előállított vízben rosszul oldódó só, illetve csapadék. A csapadék alapú ionszelektív elektródok több ion, pl. a fluorid-, szulfid-, cianid-, ólom-, kadmium- stb. ion szelektív potenciometriás meghatározását teszik lehetővé. Ezek közül kiemelkedő gyakorlati jelentőséggel bír a fluoridion-szelektív elektród, amelyet rutinszerűen alkalmaznak több országban is az ivóvíz fluorozásának (a fogszuvasodás elleni védelem céljából) monitorálására (nyomon követésére). Az ionszelektív membrán LaF_3 -kristály, amely eurórium-fluoriddal (EuF_2) adalékolnak. Az adalékolás két vegyértékű ionnal (Eu^{2+}) hibákat generál a kristály szerkezetében és ezáltal a membrán ellenállása csökkenthető. A LaF_3 -kristály esetében a La^{3+} -ionok nem mobilisek a kristályszerkezetben és a kismértékű műszeres áramot, ami potenciometriás mérőcellán keresztül folyik, kizárólag a F^- vándorlása biztosítja. Ennek megfelelően a LaF_3 felfogható anioncserélőnek és a membrán|mintaoldat határfázis potenciálját a F^- -egyensúly határozza meg. A fluoridion-szelektív elektród felépítését a 2.4.4.5. ábra szemlélteti. A belső oldat az általános elvnek megfelelően elsődleges iont (F^-) tartalmaz a membrán belső határfelületi potenciáljának állandó jól definiált értékre való beállításához, illetve hasonlóan kloridiont az oldatba merülő Ag/AgCl elektród potenciáljának beállításához.

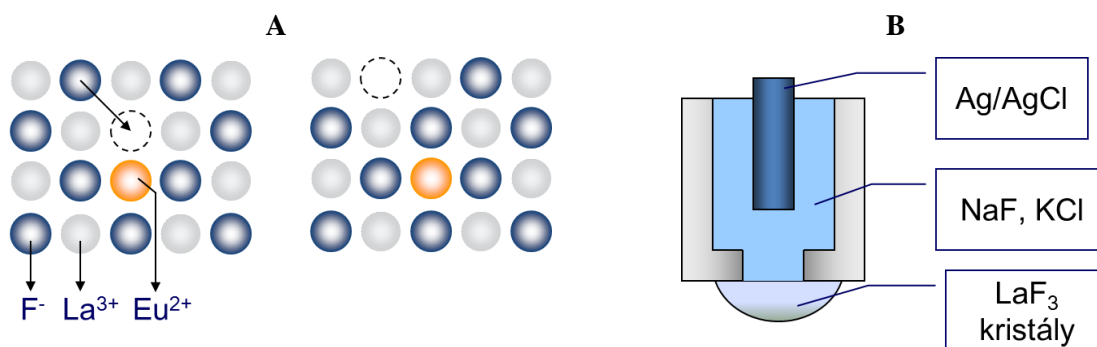
A cellafeszültség a korábban ismert módon felírható:

$$E = E^0 - S \lg a_{\text{F}^-},$$

ahol ideális esetben az S értéke 0,05916 V (25 °C-on).

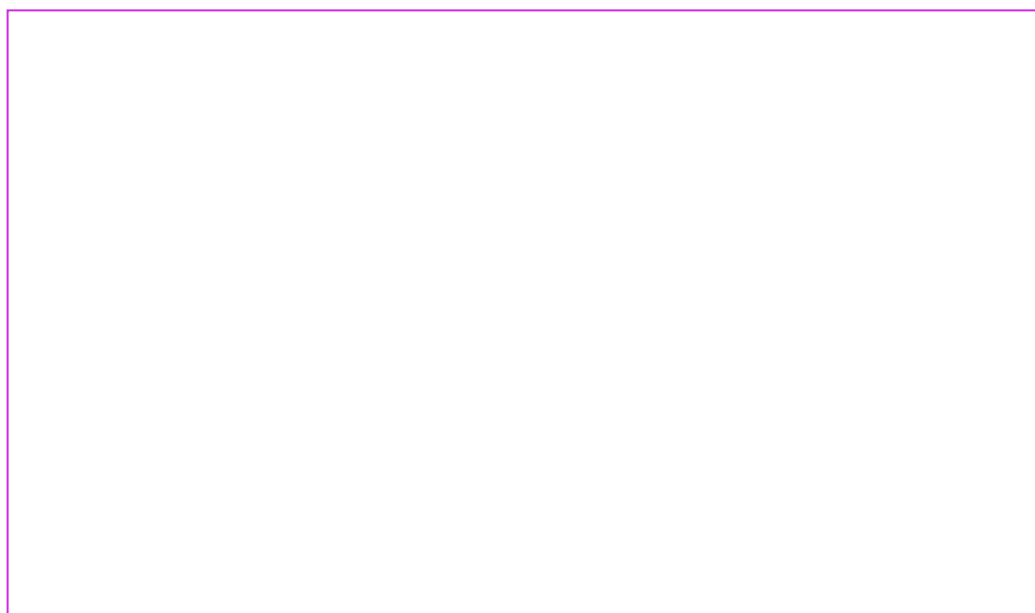
A fluoridion-szelektív elektród lineáris tartománya 1 M fluoridion koncentrációtól körülbelül 10^{-6} M-ig terjed. A fluoridion szelektivitást az biztosítja, hogy a kristályszerkezetbe más anion gyakorlatilag

nem tud bekerülni. Zavarást egyedül a hidroxidion okozhat ($K_{F^-,OH^-}^{pot} = 0.1$), amely hasonló mérettel és töltéssel rendelkezik. Savas közegben mérve a hidroxidion zavarás elkerülhető, de túl savas oldatokban ($pH < 4$) HF keletkezik ($pK_s = 3.17$), amely negatív hibát okoz. A gyakorlatban a fluoridion tartalmú mintához ionerősség beállító puffert adagolunk (TISAB), amely lehetővé teszi a fluoridion koncentráció meghatározását. A TISAB-oldat ebben az esetben tipikusan egy $pH = 5.5$ acetát pufferoldat, amely tartalmaz még NaCl-ot az ionerősség megfelelően nagy értékre való beállítása céljából. Emellett, amennyiben a minta olyan fémionokat tartalmaz, amelyek fluoridionnal stabil komplexet képeznek (pl. Al^{3+} és Fe^{3+}), akkor ezek maszkírozására citromsavat vagy más komplexképzőket is adnak a TISAB-oldathoz. Ezek a komplexképzők a fluoridionnál is stabilabb komplexet képeznek az említett fémionokkal és ezáltal megszüntetik ezek zavaró hatását a fluoridion meghatározásra.



2.4.4.5. ábra. (A) Fluoridion vándorlásának sematikus ábrázolása az Eu^{2+} -val adalékolt LaF_3 kristályban (a szaggatott vonallal az adalékolás során generált hibákat jelöltük).
(B) A fluoridion-szelektív elektród felépítése

VIDEÓ



2.4.4.2. videó: Fluoridion mérés

A csapadék alapú elektródok egy másik jelentős csoportját az ezüst szulfid tartalmú elektródok képezik. Az Ag_2S ionos vezető, amelyben az Ag^+ a mobilis töltéshordozó. Az ionszelektív membrán

ebben az esetben a préselt Ag_2S csapadékból áll, amely az Ag^+ - vagy a S^{2-} -ionokra válaszol. Egyéb anionokra szelektív membránokat lehet előállítani az Ag_2S csapadék különböző, egyéb, AgX csapadékkal (ahol X lehet például Cl^- , Br^- , SCN^-) összekeverve, majd préselve. Ugyanígy kation szelektív elektródok is előállíthatók. Ebben az esetben fémszulfid csapadékokkal (pl. CdS , PbS , CdS) adalékolják az Ag_2S -ot. Így lehet előállítani pl. Cd^{2+} -, Pb^{2+} - és Cd^{2+} -szelektív elektródokat. Egy másik módszer a halogenidion-szelektív membránok előállítására a megfelelő ezüst-halogenid csapadék szilikongumi membránban való integrálása.

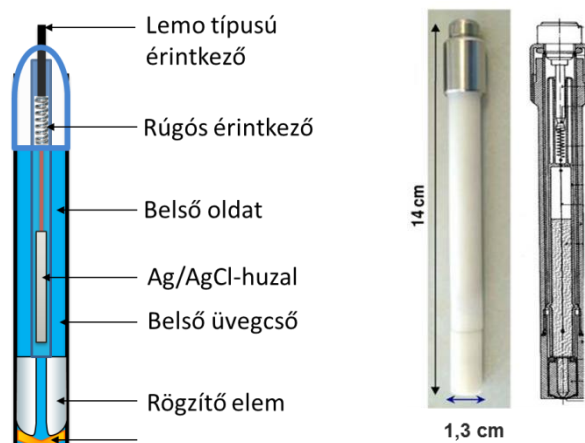
A csapadék alapú elektródoknak a szelektivitását a megfelelő csapadékok oldhatósági szorzata határozza meg. Minél kisebb egy ionnal képezett csapadék oldhatósági szorzata, annál nagyobb a membrán szelektivitása az adott ionra. Így például a kloridion-szelektív membrán esetében az ezüstionnal jóval oldhatatlanabb csapadékot képező jodid-, bromid-, cianid-, és szulfidionok erősen zavarják a kloridion meghatározást, ugyanis az elektród tulajdonképpen szelektívebb ezekre az ionokra, mint kloridionra. A különböző csapadék alapú ionszelektív membránokat és jellemző analitikai tulajdonságaikat a 2.4.4.1. táblázatban foglaltuk össze.

Mérendő ion	Membrán	Mérési tartomány	Zavaró ionok
Cl^-	AgCl	$1-5 \times 10^{-5}$	S^{2-} , I^- , Br^- , CN^-
Br^-	AgBr	$1-5 \times 10^{-6}$	S^{2-} , I^-
I^-	AgI	$1-5 \times 10^{-8}$	S^{2-}
S^{2-}	Ag_2S	$1-10^{-7}$	
CN^-	AgI	$10^{-2}-8 \times 10^{-6}$	S^{2-} , I^-
SCN^-	AgSCN	$1-5 \times 10^{-6}$	S^{2-} , I^- , CN^- , Br^-
F^-	LaF_3	$1-10^{-6}$	OH^- (pH > 8.5)
Ag^+	Ag_2S	$1-10^{-7}$	Hg^{2+}
Cu^{2+}	CuS	$10^{-1}-10^{-8}$	S^{2-} , Ag^+ , Hg^{2+} , Fe^{3+}
Cd^{2+}	CdS	$10^{-1}-10^{-7}$	Hg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+}
Pb^{2+}	PbS	$10^{-1}-10^{-6}$	Cd^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+}

2.4.4.1. táblázat. Csapadék alapú ionszelektív elektródok jellemző analitikai tulajdonságai

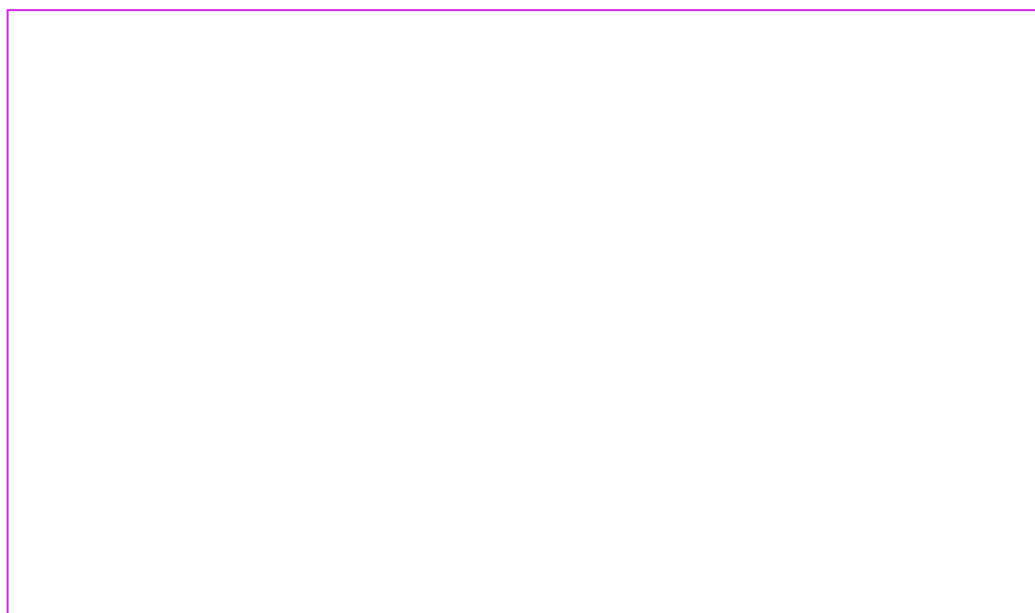
2.4.5. Folyadékmembrán-elektrodok

A **folyadékmembrán-elektrod** esetében az ionszelektív membrán legtöbb esetben lágyított hidrofób polimer membrán, amely tartalmaz egy szintén hidrofób szerves ioncserélőt, és a legszelektívebb membránok esetében egy ionofort, azaz szelektív komplexképzőt. A folyadékmembrán elnevezést az indokolja, hogy a potenciometriás működéshez elengedhetetlenül szükséges, hogy a polimer ún. üvegesedési hőmérséklete szobahőmérséklet alatt legyen. Ezáltal a membránok rendkívül viszkózus folyadéknak tekinthetők, annak ellenére, hogy megfelelő mechanikai alaktartással rendelkeznek. A leggyakrabban lágyított PVC alapú membránokat használnak, amelyben a lágyító (viszkózus – gondoljunk a mézre – magas forráspontú szerves oldószer) mennyisége 66 tömegszázalékot tesz ki. Ebben az arányban a lágyító, pl. bisz(2-etilhexil)szebacát (DOS), a PVC ~80 °C-os üvegesedési hőmérsékletét szobahőmérséklet alá csökkenti. A membránt úgy készítjük el, hogy a polimert, lágyítót, ioncserélőt és ionfort leggyakrabban tetrahidrofurán oldószerben feloldjuk és a homogén oldatot alulról zárt üveggyűrűben kiöntjük. Az oldószer elpárolgása után visszamaradt membránkorongból kb. 6–7 mm átmérőjű darabot vágunk ki dugófúróval, és ún. Philips elektródtestekbe helyezük (lásd 2.4.5.1. ábra). A belső oldat minden esetben a mérendő iont és kloridiont tartalmaz.

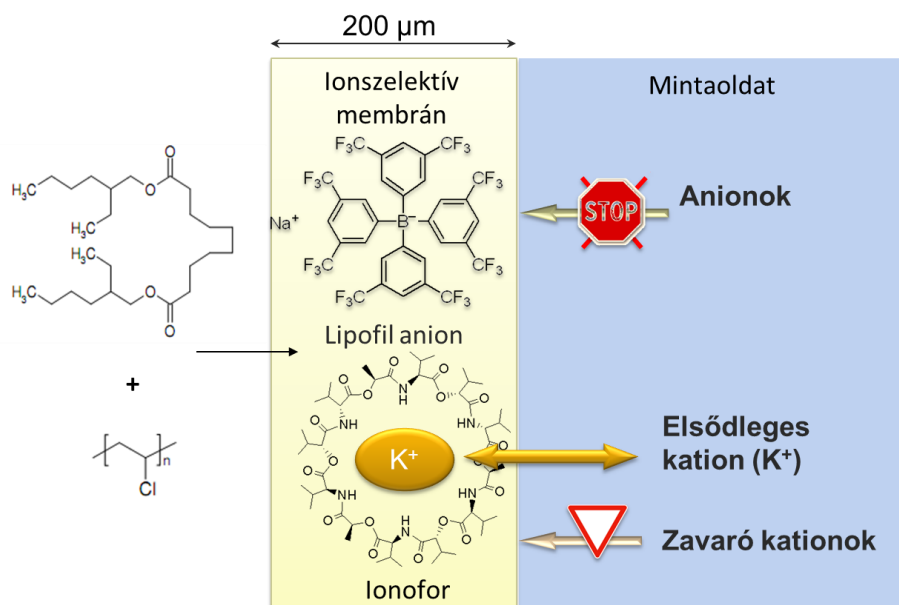


2.4.5.1. ábra. Philips elektród test alapú folyadékmembrán elektródok vázlatos felépítése és fényképe

VIDEÓ



2.4.5.1. videó: Philips test összeszerelése



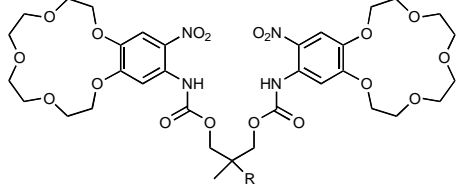
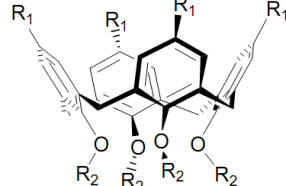
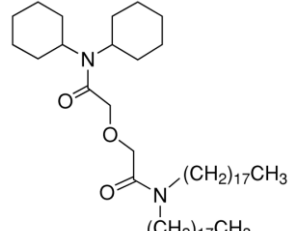
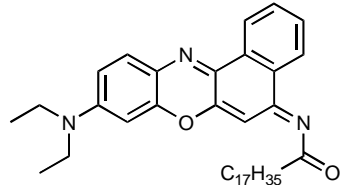
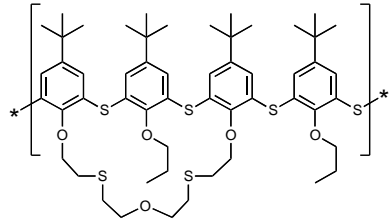
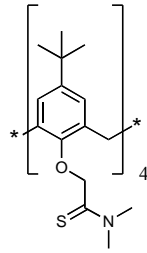
2.4.5.2. ábra. K^+ -szelektív membrán összetétele és az aktív komponensek szerepének szemléltetése. Káliumion-szelektív ionoforként valinomicint (természetes eredetű makrociklusos vegyület), kationcserélőként pedig tetrafenilborát származékot tartalmaz a bis(2-etilhexil)szebacáttal lágyított PVC-membrán

A szerves ioncserélő alapú elektródok esetében a lágyított polimer mátrixot ioncserélő tulajdonságú anyaggal adalékoljuk, pl. kalcium-dietil-hexil-foszfáttal ($Ca/DEHP/2$) kalcium-ion szelektív elektródok készítéséhez. A kalciumion-szelektív elektród potenciálja az elektródmembrán és a mintaoldat között kialakuló Ca^{2+} ioncsere-egyensúly által meghatározott. Az ioncserélő alapú folyadékmembrán elektródok hátránya, hogy szelektivitásuk nem túl jó és az apoláris ionok erősen zavarhatják a mérést. Jelenleg a gyakorlati szempontból legfontosabb folyadékmembrán alapú ionszelektív membránok ionofort tartalmaznak. Egy tipikus kationszelektív membrán összetétele tömegszázalékban megadva: ~33% PVC, ~66% lágyító, 1% ionofor és az ionoforra nézve 50 mol % kationcserélő. A lágyított PVC membrán vízzel nem elegyedő fázist képez, amely megfelelő mechanikai stabilitással rendelkezik, a kationcserélő biztosítja a membrán kation-permszelektivitását, míg az ionofor a mérendő komponens szelektív komplexálása által a szelektív ionválaszt. Mind az ionofor, mind pedig az ioncserélő vegyület lipofil tulajdonságokkal kell rendelkezzen, hogy a hidrofób membrán fázisban oldódjon, viszont ne oldódjon ki a vizes mintában.

Az ionofor alapú membránok „lelke” az ionofor amely stabil, reverzibilis és szelektív komplexet képez a mérendő (elsődleges) ionnal. A természetes ionoforok feladata az élőszervezetekben, hogy a kettős lipid rétegű membránokon keresztüli iontranszportot szelektíven szabályozza. A hidrofób ionok számára a hidrofób membránok nem átjárhatóak, de az ionofor-ion komplexek számára igen. Ennek magyarázata, hogy a természetes ionoforok általában makrociklusos vegyületek, amelyek az adott iont a hidrofób belső „üregben” másodlagos kölcsönhatásokon keresztül kötik meg, de a molekula külső felülete hidrofób. Leegyszerűsítve, a komplexképzés szelektivitását egyrészt az ion és a komplexképző „üreg” hasonló mérete, másrészt viszont az adott ion komplexálására legmegfelelőbb funkció csoportok jelenléte biztosítja.

Az ionofor alapú ionszelektív elektródok alkalmazási területét meghatározó mértékben terjesztette ki a szintetikus ionoforok tervezése és szerves kémiai szintézise. A szintetikus előállítás lehetővé tette az ionofor fizikai-kémiai tulajdonságainak tudatos beállítását. Néhány szintetikus ionofor szerkezeti képletét a 2.4.5.1. táblázatban ismertetjük. A táblázatban bemutatott BME-44 kálium ionofor a hazai ionofor gyártás egyik nagy sikere. Ezt a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemen

előállított és tesztelt ionofort (innen a BME rövidítés az ionofor nevében) rutinszerűen alkalmazzzák vér elektrolit analizátorok káliumion-szelektív elektródjaiban.

 <p>$R = -C_{12}H_{25}$ K^+; BME-44 (Koronaéter)</p>	 <p>$R_1 = -C(CH_3)_3$ $R_2 = -CH_2-CO-O-C_2H_5$ Na^+ (Kalixarén)</p>	 <p>Ca^{2+}; ETH 5234</p>
 <p>H^+; ETH 5294</p>	 <p>Ag^+ (Tiakalixarén)</p>	 <p>Pb^{2+} (Kalixarén)</p>

2.4.5.1. táblázat. Néhány szintetikus ionofor szerkezeti képlete

Az ionoforok rendkívüli változatossága 60 komponens közvetlen vagy közvetett meghatározását tette lehetővé. Jelenleg az ionofor alapú elektródok elsődleges alkalmazását a klinikai analízis képezi, amelynek során biológiai eredetű folyadékok (vér, vizelet, izzadság) elektrolit koncentrációját határozzák meg (pH , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^-).

Néhány ionofor alapú folyadékmembrán elektród jellemző szelektivitási adatait a 2.4.5.2. táblázatban foglaltuk össze. Látszik, hogy például az ezüstion-szelektív elektród esetében oxónium- és alkáli fémionokra akár 10 milliárdszoros szelektivitás is elérhető! A kereskedelmi forgalomban levő ionszelektív elektródok esetében a zavaró ionokkal szembeni szelektivitás a gyártó által meg van adva. A szelektivitási adatok és a mintaoldat tipikus összetétele alapján lehet kiszámítani, hogy az elektród alkalmas-e az adott analitikai feladat megoldására vagy sem.

Elsődleges ion (I)	Szelektivitási tényező (K_{IJ}^{pot})
K^+	Na^+ -4,2; Mg^{2+} -7,6; Ca^{2+} -6,9
Na^+	K^+ -2,7; H^+ -4,8; Ca^{2+} -6,0
Ca^{2+}	H^+ -4,9; Na^+ -4,8; Mg^{2+} -5,3
Cs^+	Na^+ -4,7; Ca^{2+} -8,5; Mg^{2+} -8,7
Ag^+	H^+ -10,2; Na^+ -10,3; Ca^{2+} -11,3
Pb^{2+}	H^+ -5,6; Na^+ -5,6; Mg^{2+} -13,8
Cd^{2+}	H^+ -6,7; Na^+ -8,4; Mg^{2+} -13,4

2.4.5.2. táblázat. Néhány ionofor alapú ionszelektív elektród potenciometriás szelektivitási tényezője

3. KONDUKTOMETRIA

Konduktometriás mérések során az oldatok elektromos vezetését, (vagy vezetőképességét, G) mérjük. A vezetés az ellenállás reciproka ($R=1/G$, [Ω]), mértékegysége a siemens ($S=\Omega^{-1}$). Elektrolit oldatokban az elektromos vezetést biztosító töltéshordozók az ionok, amelyek külső elektromos térben a saját töltésükkel ellentétes polaritású elektród felé vándorolnak.

Egy oldat vezetését több tényező is befolyásolja:

- az elektródok mérete és elhelyezkedése az oldatban („cellageometria”),
- az oldat ionkoncentrációja (minél nagyobb az ionkoncentráció, azaz a töltéshordozó koncentráció, annál nagyobb a vezetés – legalábbis híg oldatokban),
- az oldatban levő ionok mozgékonyasága [az ionok mozgékonyasága (μ) az ionok vándorlási sebességeként definiálható egységnyi elektromos térerőben, mértékegysége $\text{cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$, azaz $\text{cm s}^{-1} / \text{V cm}^{-1}$. Könnyen belátható, hogy a mozgékonyaság az egyes ionok saját jellemzője, amely függ az ionok méretétől és töltésétől. Minél nagyobb az ion mozgékonyasága, annál nagyobb az adott elektromos térben a vándorlási sebessége és annál nagyobb mértékben járul hozzá az oldat vezetéséhez],
- az oldat viszkozitása (nagyobb viszkozitású oldatokban kisebb a vezetés),
- az oldószer (az elektrolit disszociációját befolyásolja),
- az oldat hőmérséklete (a szilárd anyagoktól eltérően az elektrolit oldatok vezetése növekszik a hőmérséklettel, iontól függően 1–9%/K mértékben).

Tulajdonképpen az utolsó három tényező közvetett módon az ion mozgékonyaságot vagy koncentrációt befolyásolja.

Egyértelmű, hogy a vezetés és az oldat ionkoncentrációja között összefüggés van, és ez alapot ad a vezetőképesség-mérés analitikai alkalmazására. Ugyanakkor a vezetéshez a mintaoldat összes ionja hozzájárul a mozgékonyaságának, töltésének és koncentrációjának megfelelően. Ennek megfelelően a konduktometria nem szelektív analitikai módszer, és gyakorlati körülmények között a vezetés abszolút értéke nem informatív egy adott komponens koncentrációját illetően. Ugyanakkor közvetett módon, azaz kémiai reakciók hatására bekövetkező vezetésváltozásból (titrálás), illetve előzetes elválasztást követően, pl. ionkromatográfiában detektorként alkalmazva lehetőséget nyújt mennyiségi meghatározásra. Emellett azonban a vezetés fontos jellemzője lehet egy mintaoldatnak még akkor is, ha nem ad közvetlen információt az összetételére. Így például konduktometriát alkalmaznak oldatok sótartalmának meghatározására (NaCl ekvivalensben kifejezve) vagy víztisztítókból nyert víz minősítésére.

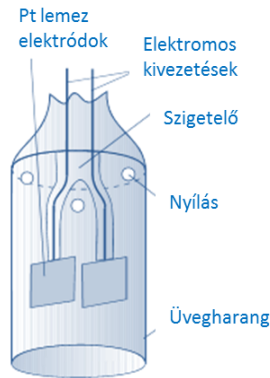
3.1. A VEZETÉS MEGHATÁROZÁSA

3.1.1. Mérési elrendezés

A vezetés méréshez alapvetően vezetőképesség mérő műszerre, konduktométerre, és egy vezetőképességi cellára van szükség. Ez a minimális mérési elrendezés az analitikai feladatnak megfelelően kiegészülhet hőmérsékletmérő szenzorral, termosztáló berendezéssel, mágneses keverővel vagy automata titrátorral.

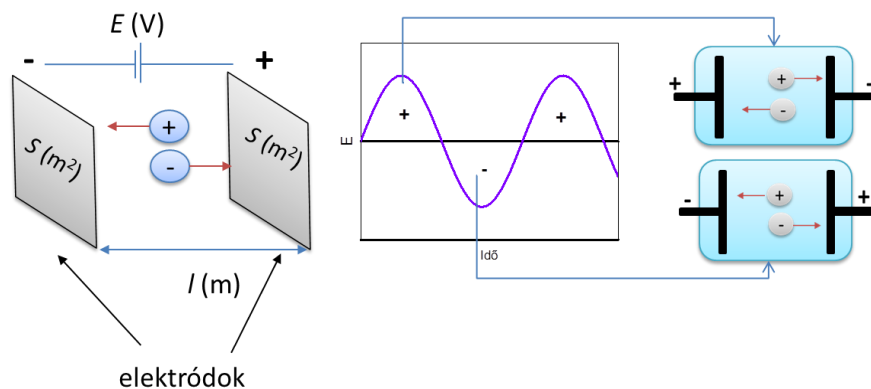
A vezetőképességi cella két egymással szembe elhelyezett inert (nem lép kémiai reakcióba az oldat összetevőivel) elektródból áll. Leggyakrabban két platinalemezt (vagy platinázott platinalemezt) alkalmaznak. Az elektródok a mérendő oldatba merülnek, és rájuk feszültséget kapcsolunk, amely az ionok, kationok és anionok, vándorlását eredményezi az ellentétes polaritású elektródok felé. Az

3.1.1.1. ábra szemlélteti az egyik leggyakoribb vezetőképességi cella felépítését. Egyenfeszültség alkalmazása esetében azonban az áram fenntartásához töltésátmenettel végbemenő elektródreakció szükséges mindkét elektród/oldat határfelületen. Ez viszont a mintaoldat valamelyik komponensének elektrolízisét feltételezi, amely megváltoztatja az elektróddal érintkező oldatrétegben a koncentrációviszonyokat, de egyéb zavaró folyamatok is felléphetnek, mint például gázfejlődés.



3.1.1.1. ábra. Harang alakú vezetőképességi cella

Mіндеzen okokból kifolyólag a vezetés mérésére egyenfeszültség nem alkalmas. Ezért a vezetésmérés váltakozó feszültség alkalmazásával történik. Az alkalmazott frekvenciák tipikusan a kHz tartományban vannak, ami azt jelenti, hogy az elektródok polaritása 1 s alatt 1000-szer változik. Ilyen rövid idő alatt nem alakul ki az elektródoknál koncentrációs polarizáció, azaz az elektródfolyamat nem befolyásolja az oldat tömegi vezetésének meghatározását. A gyorsan változó feszültség hatására lejátszódó folyamatot a 3.1.1.2. ábra mutatja be szematikusan. A folyamat pontos megértéséhez haladó szintű elektrokémiai ismeretek szükségesek (elektrokémiai impedancia spektroszkópia és ekvivalens áramkörök ismerete), de intuitívan értelmezhető úgy is, hogy a feszültségváltozás tulajdonképpen az ellentétes polaritású elektródok között az ionok gyors ide-oda vándorlását, az elektródok felületén pedig az elektrokémiai kettősréteg áttöltését eredményezi. Ezen folyamatok hatására kialakuló áramot mérjük anélkül, hogy számottevő elektrolízis menne végbe az elektródok felületén.



3.1.1.2. ábra. Az elektródgeometria és a váltóáram hatásának szematikusan ábrázolása

Gyakorlatban a konduktométerek legalább két különböző frekvenciájú váltakozó feszültség alkalmazása mellett mérik az oldat vezetését. Ennek az a magyarázata, hogy ez az eljárás a vezetésmérés pontosságát jelentősen növeli, mert a váltakozó feszültség frekvenciáját a mért oldat vezetőképességének megfelelően állítjuk be, azaz kisebb frekvenciák (pl. 300 Hz) alkalmazásával a kis vezetőképességű oldatok vezetőképességét, míg nagy frekvenciák (pl. 2 kHz) alkalmazásával a nagy vezetőképességűeket határozzuk meg.

3.1.2. A fajlagos vezetés

A vezetés – ugyanúgy, mint az ellenállás – geometriai paramétereiktől is függ. Ugyannak az oldatnak más az ellenállása (vezetőképessége), amennyiben az elektródok közötti távolság és/vagy az elektródok felülete más. Egyértelmű, hogy két oldat vezetése csak akkor hasonlítható össze, ha a mérőcella geometriai paraméterei megegyeznek vagy a vezetést ezekkel normáljuk. A gyakorlatban a vezetés jellemzésére a fajlagos vezetést (κ) használjuk, amely nem függ a mérési elrendezés geometriájától. A fajlagos vezetés a fajlagos ellenállás reciproka a következő összefüggés szerint:

$$\kappa = \frac{1}{\rho} = \frac{l}{RS} = G\theta \quad [\Omega^{-1} \text{ m}^{-1}] = [\text{S m}^{-1}],$$

ahol ρ a fajlagos ellenállás,
 l az elektródok közötti távolság,
 R az oldat ellenállása és
 S az elektródok geometriai felülete.

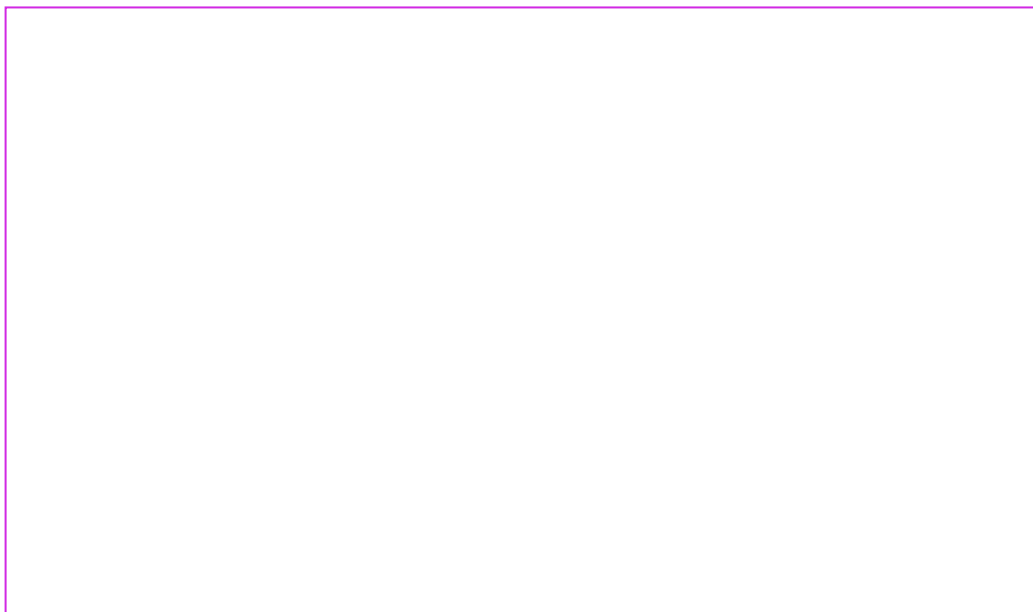
A fajlagos vezetést tehát 1 cm élhosszúságú kocka szemközti lapjai között mért ellenállás reciprokával definiáljuk. Leggyakrabban a fajlagos vezetőképesség $\mu\text{S cm}^{-1}$ vagy mS cm^{-1} tartományban van, és ezért ezek a mértékegységek terjedtek el a gyakorlatban. A $\theta = l/S$ hányadost cellaállandónak nevezzük, amelynek értékét legegyszerűbben és legpontosabban ismert vezetőségű oldatokkal határozzuk meg. Legelterjedtebben KCl-oldatokat alkalmazunk amelyek analitikai tisztaságú KCl bemérésével és feloldásával ultratiszta vízben pontos koncentrációban elkészíthetők és jól tárolhatóak, amíg vezetőségük mellett elhanyagolható a CO_2 beoldódásával és a keletkezett szén-sav disszociációjából származó vezetésváltozás. A 3.1.2.1. táblázat különböző koncentrációjú KCl standard oldatokat és fajlagos vezetőségüket foglalja össze.

KCl-oldat koncentrációja	κ (25 °C) [mS cm^{-1}]	κ (20 °C) [mS cm^{-1}]
0,001 M	0,147	0,133
0,005 M	0,718	0,654
0,01 M	1,413	1,28
0,02 M	2,76	2,51
0,05 M	6,67	6,06
0,1 M	12,88	11,67
1 M	58,67	–

3.1.2.1. táblázat. Különböző koncentrációjú KCl-oldatok fajlagos vezetése

Ismert fajlagos vezetőségű oldattal feltöltve a vezetőképességi cellát, meghatározzuk a vezetőképességet, majd kiszámoljuk a cellaállandót. Ennek ismeretében a mintaoldatok fajlagos vezetése meghatározható. Lényeges, hogy a fajlagos vezetés erősen függ a hőmérséklettől, mint ahogy ezt a 3.1.2.1. táblázat is mutatja. Ennek megfelelően az oldatok vezetőségének meghatározása során az oldatot termosztáljuk egy adott hőmérsékleten vagy a kapott értéket átszámoljuk egy referencia hőmérsékletre, általában 20 °C vagy 25 °C-ra. Ehhez azonban szükséges az oldat fajlagos vezetőségének hőmérsékleti együtthatója (TC).

VIDEÓ



3.1.2.1. videó: Konduktometria

3.1.3. A fajlagos vezetés koncentrációfüggése

Az analitikai alkalmazás szempontjából elsődleges fontosságú a fajlagos vezetés és az elektrolit koncentrációja közötti összefüggés. A fajlagos vezetés és az elektrolit koncentrációja közötti összefüggés leírására a gyakorlatban a moláris fajlagos vezetést használjuk (Λ), amely lényegében az oldat fajlagos vezetésének és koncentrációjának hányadosa:

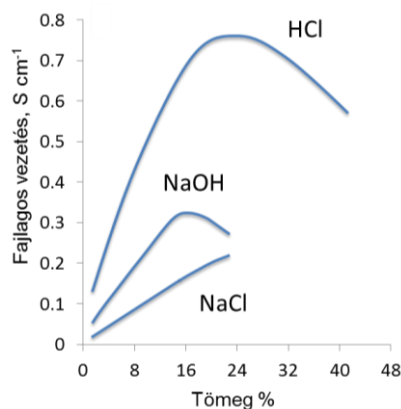
$$\Lambda = 1000 \kappa / c_0 \text{ [}\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}\text{]},$$

ahol c_0 az oldat koncentrációja gramm-mol/1000 cm³ egységben. (A képletbe az 1000 szorzó az alkalmazott mértékegységek miatt jön be.) Ez a képlet egyetlen ionizálódó, teljesen disszociáló oldott vegyület esetére vonatkozik.

Végtelen híg oldatokban az ionok egymástól függetlenül mozognak, és ennek megfelelően a végtelen híg oldatok moláris fajlagos vezetése az egyéni ionoknak vezetéshez való hozzájárulásából tevődik össze.

$$\Lambda_\infty = \sum \lambda_+ + \sum \lambda_-$$

ahol λ_+ , illetve λ_- az egyes kationok és anionok fajlagos moláris vezetése végtelen híg oldatban.



3.1.3.1. ábra. Néhány elektrolit fajlagos vezetőségének változása az elektrolit koncentrációjának függvényében

Az erős elektrolitok híg oldatai esetében a vezetés nagyjából lineárisan nő az elektrolit koncentrációjával, vagyis Λ értéke közel független a koncentrációtól (de nem teljesen, aminek a fizikai kémiában nagy jelentősége van). Nagyobb koncentrációk esetében azonban elhajlás észlelhető, egyes esetekben például, HCl, H₂SO₄, NaOH akár visszahajlás is (3.1.3.1. ábra). A gyenge elektrolitok esetében a disszociációfok koncentrációfüggése miatt ugyanez a függvény négyzetgyökös. Példaként véve az ecetsav vizes oldatát a disszociált savmennyiség 0,1 M-os koncentrációnál 1,3%-ban, 0,01 M-nál 4,1% míg 0,001 M ecetsav koncentrációnál már 12%. Általánosságban minél hígabb egy gyenge elektrolit, annál nagyobb mértékben disszociál és vesz részt a vezetésben. Végtelen híg oldatokban a gyenge elektrolitok is teljesen disszociálnak, azaz $\Lambda_{\infty} = \lambda_{anion} + \lambda_{kation}$. Ugyanakkor adott koncentrációjú (nem végtelen híg) oldat (c) és 1:1 elektrolit esetében $c_{ion} = c_{anion} = c_{kation} = \alpha c$ és ennek megfelelően az oldat fajlagos moláris vezetése kisebb lesz.

$$\Lambda_c = (\kappa_{anion} + \kappa_{kation}) \left/ \frac{c_{ion}}{\alpha} \right. = \alpha \cdot (\lambda_{anion} + \lambda_{kation}) = \alpha \cdot \Lambda_{\infty}$$

Ennek megfelelően a disszociáció foka (α) számítható az adott oldat vezetőségének meghatározása után az ionok végtelen hígításban kapott moláris vezetőségének segítségével.

$$\alpha = \Lambda_c / \Lambda_{\infty}$$

A disszociációfok ismeretében disszociációs állandó (K_d) is kiszámítható:

$$K_d = \frac{(c\alpha)(c\alpha)}{c - c\alpha} = \frac{\alpha^2 c}{1 - \alpha}$$

3.2. KONDUKTOMETRIÁS TITRÁLÁSOK

Mint említettük, a vezetésmérés a gyakorlatban nem alkalmas egyéni ionok koncentrációjának megállapítására, ugyanakkor felhasználható egyes titrálási reakciók végpontjának jelzésére. Az alkalmazás elsődleges feltétele, hogy a titrálás vezetésváltozást eredményezzen az oldatban, ezért a konduktometriás végpontjelzés nem igazán alkalmazható olyan titrálások esetében, amelyek például jelentős mennyiségű erős lúg vagy sav jelenlétében mennek végben. A nagy lúg, illetve sav felesleg a komplexometriás, illetve redoxi titrálásokra jellemző. Tehát alapvető feltétel, hogy a mintaoldat fajlagos vezetőségét jelentős mértékben a mérendő komponens határozza meg. A végpont meghatározáshoz természetesen az is szükséges, hogy a mérőoldat mennyiségének függvényében a fajlagos vezetés változását leíró görbe a titrálás során iránymenetet változtasson. A töréspont a titrálás

végpontját jelöli. Tekintettel arra, hogy a töréspontot két különböző iránytangensű lineáris szakasz meghosszabbításának metszéspontja jelöli ki, elvileg a kiértékelés nem függ a töréspont (egyenértékpon) környékén felvett mérési pontok számától, szemben például a potenciometriás végpontjelzésnél, ahol ez kritikus lehet, ráadásul a potenciometriás titrálásoknál az elektródpotenciál lassú beállása az egyenértékpon környékén tovább nehezítheti a végpontjelzést. A módszer elsősorban sav-bázis és csapadékos titrálások kivitelezésére alkalmas.

A konduktometriás titrálás megtervezésében szükséges a titrálási reakcióban elreagált és keletkező ionok fajlagos moláris vezetéseinek ismerete (lásd 2.2.2.1. táblázat). Ezek alapján meg lehet becsülni a fajlagos vezetés változását a titrálás során és ezáltal a legelősebb töréspontnak megfelelő mérőoldatot ki lehet választani.

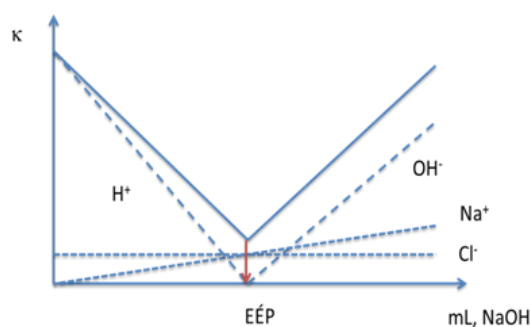
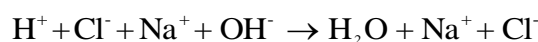
Kation	$\lambda_+ / (\Omega^{-1}\text{cm}^2 \text{mol}^{-1})$	Anion	$\lambda_- / (\Omega^{-1}\text{cm}^2 \text{mol}^{-1})$
H ⁺	350	OH ⁻	199
Li ⁺	39	F ⁻	55
Na ⁺	50	Cl ⁻	76
K ⁺	74	Br ⁻	78
Ag ⁺	62	J ⁻	77
Mg ²⁺	106	NO ₃ ⁻	71
Ca ²⁺	119	SO ₄ ²⁻	158

3.1.3.1. táblázat. Néhány ion moláris fajlagos vezetése vizes oldatban, 25 °C-on ($\Omega^{-1}\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$).

A hidroxidionok és az oxóniumionok vezetése jelentősen nagyobb, mint a többi ioné a prototróp mechanizmusú vezetés miatt

3.2.1. Egy egyszerű példát a konduktometriás titrálásra

Sósavoldat koncentrációjának meghatározása sav-bázis titrálással, NaOH mérőoldat alkalmazásával:



3.2.1.1. ábra. Egyes ionok hozzájárulása az oldat vezetéséhez erős sav (HCl) erős lúggal történő titrálásakor (szaggatott vonal) és a mért vezetés (V alakú görbe)

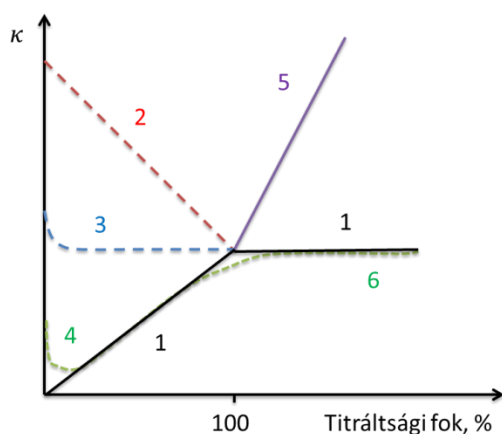
A 3.2.1.1. ábrán felvázoltuk a különböző ionok hozzájárulását a fajlagos vezetéshez a titrálás során (szaggatott vonal). Egyértelmű a táblázat alapján, hogy a legnagyobb mértékben az oldat vezetéséhez a hidroxid és oxónium ionok járulnak hozzá, míg a velük egyenlő koncentrációban jelenlevő Na⁺- és Cl⁻ ionok kevésbé. Ennek megfelelően a kumulált fajlagos vezetés, azaz az egyéni ionok fajlagos moláris vezetéseinek összege, az egyenértékpon előtt csökken a mérőoldat hozzáadásával (a H⁺ fogyása miatt), majd az egyenértékpon után nő az OH⁻-koncentráció növekedésével. A „V” alakú titrálási görbe lineáris szakaszainak metszéspontja jelzi a titrálás végpontját.

3.2.2. Konduktometriás sav-bázis titrálási görbék

A sav-bázis titrálásoknál maradvány a sav meghatározás általánosan, legyen az gyenge vagy erős sav, a következő alapreakció szerint történik:



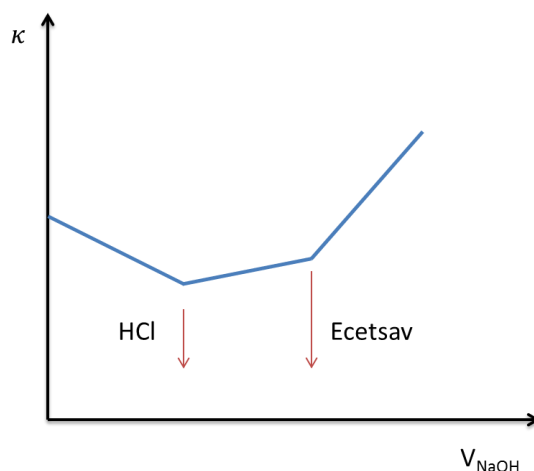
Gyenge sav titrálásakor a titrálás kezdetén a gyenge sav kismértékű disszociációja miatt kicsi a vezetőképessége az oldatnak. A görbe kezdeti szakaszán tapasztalható kismértékű vezetéscsökkenés magyarázza, hogy a gyenge sav disszociációját a keletkező saját ion visszaszorítja. Ezt a szakaszt követően viszont a titrálás során keletkező jól disszociáló só határozza meg az oldat vezetését, amely a titrálás során a só koncentrációjával arányosan nő (3.2.2.1. ábra 4. görbe). Mérőoldatként használhatunk erős vagy gyenge lúgot. Erős lúg alkalmazása esetén az egyenértékpont után, tekintettel az OH⁻ kiemelten magas fajlagos moláris vezetésére, az oldat vezetése nagyobb mértékben növekedik a titráltsági fok függvényében, mint az egyenértékpont előtt. A két lineáris szakasz metszéspontja (3.2.2.1. ábra 1. és 5. görbe) jelöli a titrálás végpontját. Gyenge lúgot alkalmazva mérőoldatként az egyenértékpont után (6. görbe) a titrálási görbe gyakorlatilag nem tér el az ún. „sóvonaltól” (1. görbe), ugyanis a gyenge lúg kismértékű disszociációját a só felesleg visszaszorítja. Látható, hogy gyenge lúgok kiválóan alkalmazhatóak gyenge savak meghatározására (és fordítva), ennek megfelelően ez a felállítás ajánlott a gyakorlatban, ugyanis a például erős lúgok alkalmazásánál könnyen előfordulhat, hogy az 1-es és az 5-ös görbék iránytangense tér el számottevően egymástól. Erős savakat azonban erős lúggal érdemes titrálni, mert a töréspont mindig élesebb (az iránytangens-változás nagyobb), mint gyenge lúggal történő titrálásnál.



1. Sóvonaltól
2. Erős sav titrálási görbéje a végpontig
3. Középerős sav titrálási görbéje a végpontig
4. Gyenge sav titrálási görbéje a végpontig
5. Erős bázissal történő titrálás görbéje a végpont után
6. Gyenge bázissal történő titrálás görbéje a végpont után

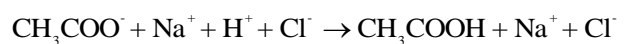
3.2.2.1. ábra. Konduktometriás sav-bázis titrálási görbék

A konduktometriás végpontjelzés alkalmazható gyenge és erős sav egymás melletti meghatározására is. A 3.2.2.2. ábra sósav és ecetsav egymás melletti meghatározását szemlélteti NaOH mérőoldat alkalmazásával. A sósav visszaszorítja az ecetsav disszociációját, és ezért először az erős sav, majd a gyenge sav semlegesítése megy végbe. Ennek megfelelően a titrálási görbe két töréspontja közül az első jelzi a HCl, míg a második az ecetsav titrálásának végpontját.



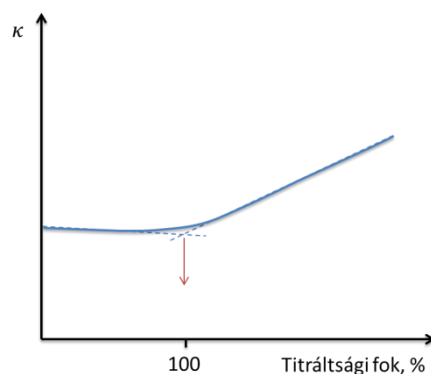
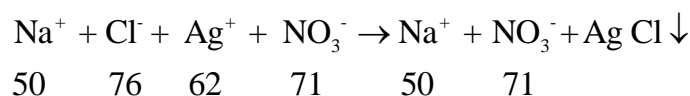
3.2.2.2. ábra. Sósav és ecetsav keverék NaOH-mérőoldattal való meghatározása során kapott konduktometriás titrálási görbe

A konduktometriás végpontjelzés kiterjeszhető lúgosan vagy savasan hidrolizáló sók titrimetriás meghatározására is. Így például a nátrium-acetát meghatározása sósavval a következő reakció egyenlet szerint történik:



Az egyenértékpont előtt az acetátionok fogyását a Cl⁻-ionok kompenzálják, és mivel a mozgékonyaságok azonos, ezért számottevő vezetésváltozást nem észlelünk az egyenértékpont előtt. Az ecetsav disszociációját az egyenértékpont előtt visszaszorítja a meg nem titrált acetátion-felesleg. Az egyenértékpont után viszont a sósav-felesleg jelentős vezetésnövekedést okoz.

Mint említettük a konduktometriás titrálások második nagy alkalmazási területét, a sav-bázis titrálások mellett, a csapadékos titrálások képezik. Az ilyen típusú titrálásokat a kloridion argentometriás meghatározásán keresztül mutatjuk be, amely alkalmazásai között említhető a tengervíz Cl⁻ tartalmának meghatározása.



3.2.2.3. ábra. Kloridion konduktometriás titrálása ezüst-nitráttal

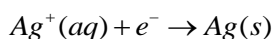
Az egyenértékpontra a csapadék leválásával egyidejűleg, a kloridionok helyett a valamivel kisebb mozgékonyaságú nitrátionok jutnak az oldatba. Ezért a titrálás egyenértékpontra terjedő szakaszában az oldat vezetése gyakorlatilag állandó (enyhén csökken). Az egyenértékpontra elérése után az ezüst-nitrát mérőoldat-feleslegének hatására az oldat vezetése megnő (lásd 3.2.2.3. ábra). A titrálási görbe alakja lévén, hogy a reakcióban csak erős elektrolitok vesznek részt, tulajdonképpen három ponttal leírható. A titrálási reakcióban részt vevő ionok alatt feltüntetjük a fajlagos moláris vezetésüket. A titrálás kezdetén csak NaCl van jelen, ezért a vezetés $50 + 76 = 126$ értékkel lesz arányos. Az egyenértékpontra jó megközelítéssel csak NaNO_3 vesz részt a vezetésben, és ezért ez $50 + 71 = 121$ értékkel lesz arányos, egyértelműen mutatva, hogy a vezetés kismértékben csökken az egyenértékpontra. 200%-os titrálási foknál ehhez az értékhez hozzáadódik az AgNO_3 -felesleg, azaz a vezetés $121 + 62 + 71 = 254$ értékkel lesz arányos. A három pont alapján a titrálási görbe egyszerűen szerkeszthető. Az egyenértékpontra észlelhető eltérés a linearitástól a csapadék oldódásából származó ionok miatt van. Minél nagyobb a csapadék oldhatósági szorzata, annál nagyobb az eltérés a vezetésben az egyenértékpontra a mért és a lineáris szakasz metszéspontja által meghatározott értékek között. Az egyenértékpontra előtt és után a sajátion-felesleg miatt ez nem számottevő és a vezetés jó megközelítéssel lineárisan változik a titrálás alatt. Csak nagyon híg oldatok esetében várható számottevő eltérés a linearitástól (ebben az esetben a csapadék oldhatóságát csökkenthetjük nemvizes oldószer – pl. metanol – mintába adagolásával).

Ez a példa szemlélteti a konduktometriás titrálások azon nagy előnyét, hogy a végpontra meghatározáshoz elég a tőle távol fekvő lineáris szakaszok meghosszabbítása. Ennek megfelelően nyilvánvaló, hogy a konduktometriás titrálás olyan esetekben is alkalmazható, amikor a reakció nem megy kvantitatívan végbe, mert a termék disszociációját/oldódását a saját ionok az egyenértékpontraól távol visszaszorítják. Ugyanebből az okból kifolyólag viszonylag kis koncentrációjú (0.001 M vagy akár kisebb) minták titrálására is alkalmasak.

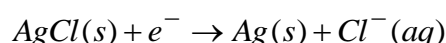
A fenti példák azt szeretnék szemléltetni, hogy konduktometriás végpontjelzés a műszeres végpontjelzés által biztosított automatizálási lehetőségeken túlmenően a klasszikus indikátoros titrálások több korlátozó feltételét feloldják. Elképzelhetetlen például klasszikus titrálásnál, hogy gyenge savat lúggal titráljunk.

4. KÉRDÉSEK ÉS SZÁMÍTÁSI FELADATOK

- Mi a lényegi különbség a galván- és elektrolizáló cellák között?
- Mi a különbség a coulombmetriás és voltammetriás módszerek között?
- Számítsa ki az AgCl oldhatósági szorzatát a következő redoxi egyenletek standard redukciós potenciáljának segítségével.

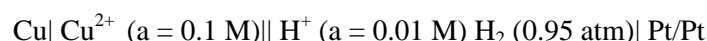


$$E_{\text{Ag}/\text{Ag}^+}^0 = 0,799 \text{ V}$$



$$E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}^0 = 0,222 \text{ V}$$

- Számítsa ki a következő cella elektromotoros erejét (25°C):



- Az Ag/AgCl referenciaelektrodok potenciálja ideális esetben a mintaoldat összetételétől független. Mi ennek a magyarázata?
- Mik a redoxi elektrodok? Írjon fel egy példát, és adja meg, hogyan írható fel potenciálja a megfelelő ion (ionok) koncentrációjának függvényében?
- Hogyan lehet a diffúziós potenciált minimálni?
- Vas(II)-ionokat titrálunk permanganometriásan, a pH értéke 0. Mennyivel változik meg a reakcióelegybe merülő Pt-elektrod potenciálja, miközben a titráltsági fok 90 %-ról 101 %-ra növekszik?
($E^0(\text{titráló rendszer}) = 0,77 \text{ V}$; $E^0(\text{titrálós rendszer}) = 1,52 \text{ V}$; $(RT/F) \ln 10 = 0,059 \text{ V}$)
- Kalciumion meghatározásánál kalcium-szelektív elektróddal milyen elektrolit oldatot használna a kettős sóhidas referencia elektrod külső oldatterében? A mintaoldat Ca^{2+} koncentrációja $10^{-6} \text{ M} - 10^{-1} \text{ M}$ között változhat. Indokolja a választát.

1 M KCl	10 ⁻⁶ M KNO ₃
1 mM KCl	1 M LiOAC
1 mM NaCl	1 mM LiOAc
0.1 M KNO ₃	

- Párosítsa az ionoforon alapuló lágyított PVC membránok egyes komponenseit és ezek jellemzőjét.

A. Kationos válasz		1. Ionofor
B. Hidrofobicitás		2. Lipofil anion
C. Ionszelektív válasz		3. Lipofil kation
D. Anionos válasz		4. Lágyított PVC membrán

- Az alábbi komponensek közül melyikeket lehet ion-szelektív érzékelőkkel meghatározni? Indokolja választát. Ismertesse röviden a meghatározható komponensek esetében javasolt szenzorok felépítését.

- | | |
|---------------|---------------------|
| a) benzol | c) szén-dioxid |
| b) kalciumion | d) H ₂ O |

- Azonos-e a pH-ja egy 0,01 M HCl oldatnak és egy oldatnak, amely 0.01 M HCl-ra és 0.09 M KCl-ra nézve? Számítsa ki a két oldat pH-ját.
- Mi határozza meg az abszolút pH mérés pontosságát?

14. Ismertesse a kombinált üvegelektrod felépítését.
15. Az üvegelektrod potenciálja a pH lineáris függvénye. Egy üvegelektrodból és állandó potenciálú összehasonlító elektrodból álló mérőrendszert két pufferoldat segítségével kalibrálunk. 3,20 pH értéknél 615 mV, 8,55 pH értéknél 305 mV feszültséget mérünk. Az ismeretlen oldatban 412 mV-ot kapunk. Számítsa ki az oldat pH-ját!
16. Vázzon fel egy olyan potenciometriás mérőrendszert, amely sav-bázis titrálások végpontjelzésére alkalmas! Milyen elektrodokat használna és miért?
17. Ismertesse egy oldat vezetését befolyásoló tényezőket.
18. 0,1 M HCl oldat fajlagos vezetése $0.0394 \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Számítsa ki az oldat moláris fajlagos vezetését.
19. Egy vezetőképességi cella ellenállása 702Ω amikor 0.1 M KCl oldattal töltjük fel ($\kappa = 0.14807 \Omega^{-1} \text{ m}^{-1}$). Számítsa ki a cellaállandót.
20. Erős bázist titrálunk erős savval, a végpontot konduktometriásan jelezzük. Rajzolja fel és röviden értelmezze a titrálási görbét!
21. Potenciometriás vagy konduktometriás végpontjelzést alkalmazna Ca^{2+} titrimetriás meghatározására EDTA mérőoldattal? Indokolja a választ.

III. MŰSZERES ANALITIKA

B. SPEKTROSKÓPIA

Tartalom

1. Optikai spektroszkópia	132
1.1. Bevezető	132
1.2. Az optikai spektrométerek felépítése	144
2. Atomspektroszkópia	167
2.1. Bevezető	167
2.2. Lángemissziós módszer, lángfotometria	201
2.3. Szikraspektrometria	202
2.4. Induktív csatolású plazma optikai emissziós módszer (ICP-OES)	204
2.5. Atomabszorpciós spektrometria (AAS)	216
2.6. Induktív csatolású plazma tömegspektrometriás (ICP-MS) módszer	238
3. Optikai molekulaszpektroszkópia	253
3.1. Ultraibolya-látható (UV-VIS) spektroszkópia	253
3.2. Lumineszcenciaspektroszkópia	264
3.3. Infravörös (IR) spektroszkópia	270
4. Tömegspektrometria	284
4.1. Bevezető	284
4.2. A tömegspektrométerek részegységei	289
5. Ellenőrző kérdések	302

1. OPTIKAI SPEKTROSKÓPIA

1.1. BEVEZETŐ

1.1.1. Az elektromágneses sugárzás tulajdonságai

A műszeres analitikai eljárások jelentős csoportját alkotják a minta és az elektromágneses sugárzás kölcsönhatásán alapuló módszerek. (Az optikai spektroszkópiában az elektromágneses sugárzás kifejezés helyett azonos értelemben használjuk a sugárzás és a fény megjelölést is.) Ezen módszerek segítségével vizsgálható:

- a minta anyagi minősége,
- mennyiségi összetétele és
- az anyag szerkezete.

Éppen ezért fontos az elektromágneses sugárzásnak, a kölcsönhatás jellegének és az anyag fizikai-kémiai tulajdonságainak ismerete.

A fényforrás, mely a tér több irányába sugároz, lehet

- **elsődleges fényforrás:** az önállóan világító testek (pl. bármely lámpa),
- **másodlagos fényforrás:** a rájuk eső fény hatására látható testek (pl.: tükör).

Fénynyaláb, illetve fénysugár:

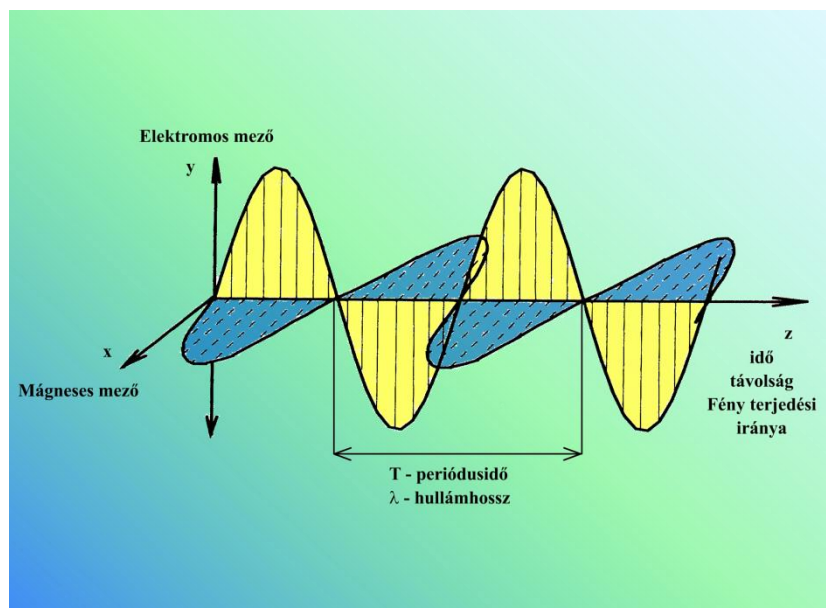
- **fénynyaláb:** egy adott fényáteresztő felületen (pl.: rés) átmenő sugárzás,
- **fénysugár:** a fényáteresztő felületet egyre csökkentve, a határesetet elképzelve kapjuk, egy geometriai vonallal ábrázolható.

Az elektromágneses sugárzásra jellemző annak:

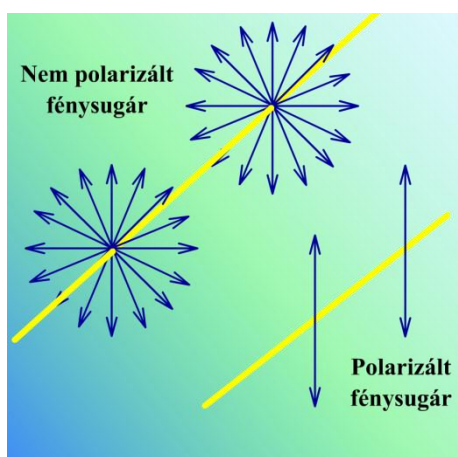
- **részecsketermészete** és
- **hullámtermészete.**

Az elektromágneses sugárzás a hullámtermészete miatt oszcillál (ezt Maxwell írta le),

- **nempolarizált** (vagy más néven **izotróp**) fény esetében (ha a térben szabad töltés nincs jelen) a mágneses és az elektromos mező egymásra és a fény terjedésére merőlegesen, de egyébként a tér bármely irányában oszcillál,
- míg **lineárisan polarizált** (vagy **anizotróp**) fénynél az oszcilláció egyetlen irányban történik.



1.1.1.1. ábra. Elektromágneses sugárzás a terjedés irányára merőlegesen oszcillál



1.1.1.2. ábra. Fénysugár polarizáltsága

Az elektromos sugárzás jellemzői

A **hullámhossz** (λ [$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$]), mely a szinusz hullám két egymás utáni, azonos fázisú és azonos iránytangensű pontja közötti távolság.

A **frekvencia** (ν [$\frac{1}{\text{s}} = \text{Hz}$]), azaz az időegységre eső hullámok száma.

A **hullámszám** ($\tilde{\nu}$ [$\frac{1}{\text{m}}$; $\frac{1}{\text{cm}}$]), mely a hosszúságegységre eső hullámok száma, azaz $\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$.

Hullámhossztartomány			Folyamat	Spektroszkópai módszer
Gamma		0,5 – 10 pm	magátmenetek	Mössbauer vagy gammafluoreszcens spektroszkópia
Röntgen	X-ray	0,01 – 10 nm	belső elektronátmenetek	röntgen-emissziós, röntgen-abszorpciós, röntgen-fluoreszcenciás, elektronmikroszkopos módszerek
Távoli ultraibolya	FUV	10 – 180 nm	vegértékelektronok gerjesztése: külső elektronátmenetek	atomabszorpciós, atomemissziós, atomfluoreszcenciás, molekulaabszorpciós, molekulaemissziós, lumineszcenciás módszerek
Ultraibolya	UV	180 – 350 nm		
Látható	VIS	350 – 780 nm		
Közeli infravörös	NIR	780 – 2000 nm	rezgési és forgási átmenetek	infravörös spektroszkópia
Infravörös	IR	2 – 25 μm	forgási átmenetek	távoli infravörös spektroszkópia
Távoli infravörös	FIR	25 – 300 μm		
Mikrohullámok		0,3 mm – 1 m	elektronspin átmenetek	mikrohullámú spektroszkópia elektronspin-rezonancia spektroszkópia
Rádióhullámok		1 – 300 m	magspin átmenetek	magmágneses rezonancia spektroszkópia

1.1.1.1. táblázat. Hullámhossztartományok és a spektroszkópai módszerek

A táblázatban színesen és vastagon szedett folyamatokkal és módszerekkel fogunk foglalkozni a következő fejezetekben. A távoli ultraibolya tartományban a levegő oxigénjének jelentős elnyelése miatt vákuumban vagy inert atmoszférában mérnek.

A terjedési sebesség:

- anyagi közegekben $v \left[\frac{\text{m}}{\text{s}} \right] = v \cdot \lambda$, amely mindig kisebb, mint
- a vákuumban mért érték, ami $c = 3,00 \cdot 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}$, és továbbra is igaz, hogy $c = v \cdot \lambda$.

Ahol a frekvencia (ν) független az anyagi közegtől, viszont a hullámhossz (λ) közeghatár átlépésekor változik. Egy adott közegben hosszabb hullámhossznak kisebb törésmutató felel meg.

$$\lambda_1 < \lambda_2 \Rightarrow n \downarrow \text{csökken.}$$

Ahol $n [-]$ az adott anyagi közeg **törésmutatója**, amely a vákuumban mért sebesség és az adott közegre jellemző terjedési sebesség hányadosa. (Következésképpen a vákuum törésmutatója 1.)

$$n = \frac{c}{v} \rightarrow v = \frac{c}{n}.$$

Az ultraibolya, látható és infravörös tartományban a c és ν értéke közti eltérés mintegy 0,1%. A hullámhossz, a frekvencia és a hullámszám közti kapcsolat tehát az alábbi összefüggésekkel adható meg:

$$\nu \cdot \lambda = \frac{c}{n}, \text{ illetve } \tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu \cdot n}{c}.$$

Az elektromágneses sugárzás egyes tulajdonságai jobban megérthetőek, ha a sugárzást elemi energiárészecskék (**foton**) áramának tekintjük. Egy adott foton energiáját a Planck-egyenlet adja meg:

$$E = h \cdot \nu = h \frac{c}{\lambda \cdot n},$$

ahol h a Planck-állandó, melynek értéke $6,625 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$.

A sugárzás intenzitása a felületegységen áthaladó fotonok számával arányos. Mivel bármely E energiához

$$m = \frac{E}{c^2}$$

tömeg tartozik, így a fénysebességgel mozgó foton impulzusának nagysága az

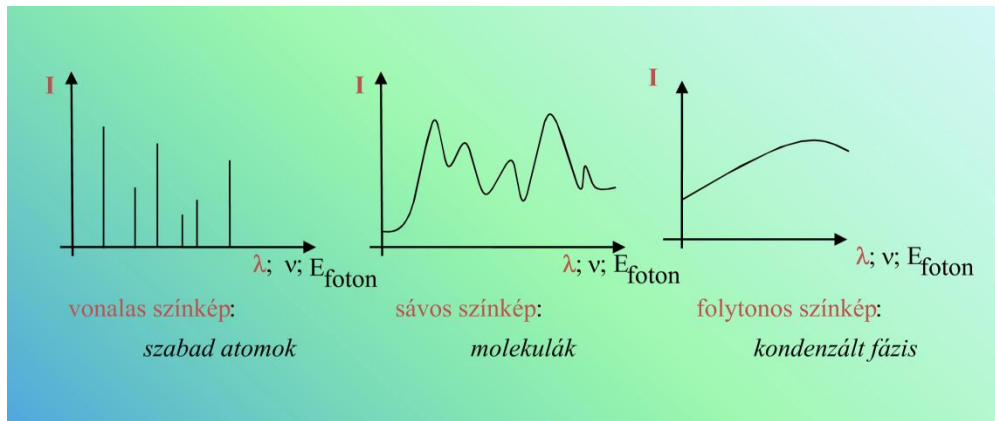
$$m \cdot c = \frac{h \cdot \nu}{c^2} \cdot c = \frac{h \cdot \nu}{c} = \frac{h}{\lambda}$$

összefüggéssel adható meg.

Monokromatikus (egyszínű) **fény**: egy meghatározott λ hullámhosszúságú fény. A gyakorlatban monokromatikus sugárzásoként **egy nagyon kis hullámhossztartományt** értünk. Szigorúan monokromatikus fény nem valósítható meg, mert a Heisenberg-féle határozatlansági reláció szerint egy stacionárius állapotú rendszer energiáját csak ΔE határozatlansággal lehet meghatározni és ez természetes vonalszélességet ($\Delta \lambda$) okoz.

A spektroszkópiai módszereket egyrészt atom- és molekulaszpektroszkópiai módszerekre bontjuk aszerint, hogy a spektroszkópiai információ atomoktól vagy molekuláktól származik, másrészt feloszthatóak az elektromágneses sugárzás hullámhossza szerint. Ezen sugárzások fizikai és kémiai hatása a hozzájuk tartozó fotonok energiataralma miatt, valamint az ebből eredő eltérő fény-anyag kölcsönhatások miatt, jelentősen különbözik.

A **spektrum** (más néven színekép): a hullámhossz, frekvencia vagy hullámszám függvényében ábrázolt analitikai jel (intenzitás vagy abszorbanancia). Azaz a spektroszkópiai információ tömör megjelenítése, ami lehetőséget ad a minta minőségi jellemzésére. A spektrum jellege lehet vonalas (atomspektroszkópia, jel félértékszélessége: 0,005–0,03 nm), sávós (UV-VIS-spektroszkópia, jel félértékszélessége 10–50 nm) és folytonos, amikor a spektrumban a vonalak és sávok elmosódnak, a spektrum struktúráltasága eltűnik és folytonos spektrum keletkezik.



1.1.1.3. ábra. Spektrum típusok

A csúcsokhoz tartozó hullámhossz és a csúcsok relatív intenzitása ujjlenyomatszerűen jellemzi a mintát. Minőségi elemzéshez a nagyszámú, jól elkülönülő csúcsot tartalmazó spektrumok a legalkalmasabbak. Ugyanakkor nem szabad elfeledkezni arról, hogy a spektrum a fény és a részecskehalmoz kölcsönhatásának eredményeként jön létre, melytől a fény és az egyes részecske kölcsönhatásának spektruma (amennyiben meghatározható) eltér, és erre, például az egyensúlyi rendszerek vizsgálatakor gondolni kell.

1.1.2. Az elektromágneses sugárzás és az anyag lehetséges kölcsönhatásai

A fény és az anyag közti kölcsönhatás eredménye lehet:

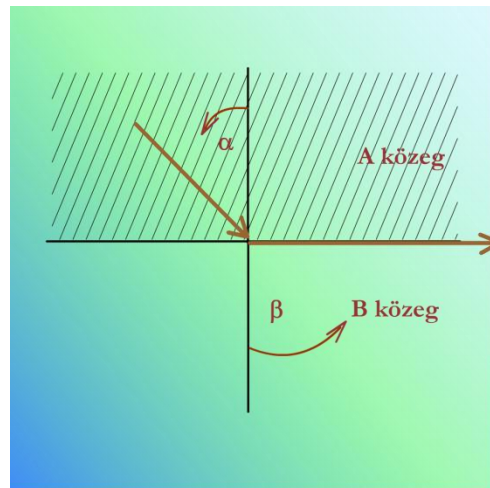
- **reflexió** (visszaverődés),
- **refrakció** (fénytörés),
- **optikai forgatás,**
- **fényszórás,**
- **abszorpció** (fényelnyelés),
- **emisszió** (fénykibocsátás),
- **fluoreszcencia,**
- **foszforeszcencia** és
- **kemilumineszcencia.**

Visszaverődés (reflexió)

A test vagy közeg határfelületére eső fény egy része behatol a közegbe, másik része **visszaverődik**. Síma felületek a rájuk eső fénysugarakat túlnyomó részben csak meghatározott irányban verik vissza. Ezen alapul az optikai spektrométerekben található tükrök működése.

Fénytörés (refrakció)

Amennyiben az egyik közegből a másikba jutó fény a merőlegetől eltérő szögben esik be, akkor a fény iránya megváltozik, ez a jelenség a **fénytörés**. A fénytörés törvényét a Snellius–Descartes törvény írja le: az α beesési szög és a β törési szög szinuszáinak hányadosa a beesési szögtől független, a két közeg (A és B) minőségére jellemző állandó, melyet a B közeg A közegre vonatkozó törésmutatójának (n_{BA}) hívunk.



1.1.2.1. mozgó ábra. Fénytörés a közeghatáron, teljes visszaverődés határszöge

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = n_{BA},$$

ahol $n_{BA} = \frac{n_B}{n_A}$, azaz B és A közeg vákuumra vonatkoztatott **törésmutatójának** hányadosa.

Levegő-üveg átmenetnél $n_{BA} = 1,5$, mert

$$\alpha = 30^\circ \quad \beta = 19,5^\circ$$

$$\alpha = 60^\circ \quad \beta = 35,5^\circ.$$

A törésmutató mérése alkalmazható minőségi és mennyiségi meghatározásokra is, pl. sör alkoholtartalmának mérésére.

Teljes visszaverődés (totális reflexió) jelensége

Optikailag sűrűbb közegből ritkább közegbe lépő sugárzás esetében bizonyos α_H -értéknél $\beta = 90^\circ$ lesz, az α beesési szöghöz tartozó fénysugár nem lép be a „B” közegbe (lásd 1.1.2.1. mozgó ábra. Fénytörés a közeghatáron, teljes visszaverődés határszöge), hanem a felületét súrolja és

$$\sin \alpha_H = n_{BA}.$$

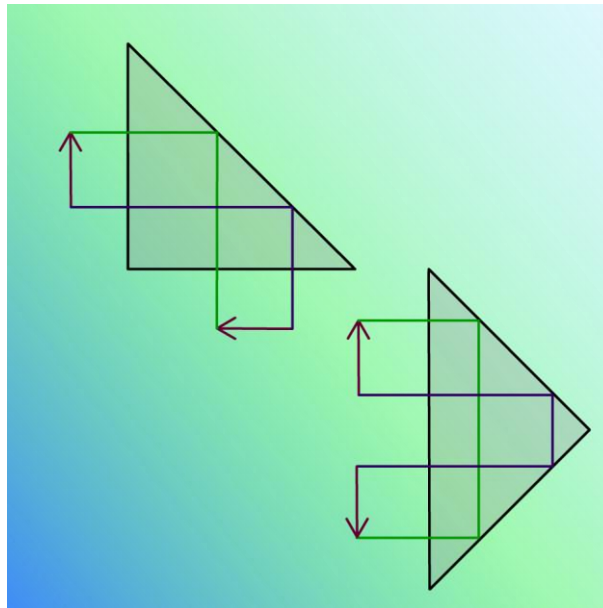
Ha a sugarat α_H -értékénél nagyobb beesési szöggel ejtünk be, akkor megtört sugarat nem észlelünk, hanem a fény visszaverődik és a visszaverődési szög megegyezik a beesési szöggel.

α_H beesési szög a teljes visszaverődés **határszöge**.

- Víz és levegő esetében $\alpha_H = 48,5^\circ$,
- üveg és levegő esetében $\alpha_H = 42^\circ$.

A teljes visszaverődés jelenségének alkalmazása:

- teljesen fényvisszaverő prizmak használata tükrök helyett,
- a reflexiós infravörös spektroszkópiai vizsgálatok különleges megoldása az ún. ATR- (Attenuated Total Reflectance) (3.3.2.1. ábra) módszer, melynél a mintát a nagy törésmutatójú kristály felületére viszik fel,
- valamint a jelenséget alkalmazzák az orvosi gyakorlatban és ipari termelési folyamatok ellenőrzésére, szabályozására.



1.1.2.2. mozgó ábra. Teljes visszaverődés jelensége prizmban

Optikai forgatás

Ha a lineárisan polarizált fény optikailag aktív közegen (például egy L-aminosav oldata) halad át, akkor az a lineárisan polarizált fény polarizációs síkját balra vagy jobbra forgatja el. Ennek oka, hogy a lineárisan polarizált fény felbontható egy balra és egy jobbra cirkulárisan polarizált fényre, melyek törésmutatója és ezáltal sebessége az optikailag aktív közegen eltér. A fény hullámhosszát csökkentve a forgatás szöge növekszik. A polarimetria egyetlen hullámhosszon méri az optikai forgatást, míg az optikai forgatás hullámhosszfüggése az optikai rotációs diszperzió (ORD). Azt a jelenséget, amikor a közeg a balra és a jobbra cirkulárisan polarizált fénykomponenst különböző mértékben nyeli el cirkuláris dikroizmusnak (CD) nevezik.

Fényszórás

A mintába belépő sugárzás homogén fázisú mintákban az atomokon, molekulákon, heterogén fázisú mintákban a gázban, illetve folyadékban diszpergált folyadék vagy szilárd részecskéken, gázbuborékok határfelületén szóródik, jellemzően megváltozik a sugárzás haladási iránya.

Rayleigh-szóródás: ha a szóró részecske mérete a beeső fény hullámhosszához képest kicsi ($< 5\%$), valamint a beeső és szórt fény hullámhossza megegyezik.

A szóródott fény intenzitása fordítva arányos a fény hullámhosszának negyedik hatványával, így a rövidebb hullámhosszú kék fény jobban szóródik a hosszabb hullámhosszú vörös fényénél. Ennek köszönhető a nappali égbolt kék színe, valamint az, hogy a sötétben a közlekedési lámpák piros színe messzebből vehető észre, mint a zöld.

Kolloid oldaton áthaladó sugárzás intenzitása csökken a részecskéken bekövetkező fényszórás, fényelhajlás és abszorpció miatt és az intenzitáscsökkenést a részecskék minősége, mérete és koncentrációja is befolyásolja.

A transzmittált fény mérésén alapuló módszer a **turbidimetria**, míg a **nefelometriás** technikánál a megvilágító fény útjára merőlegesen történik a mérés.

Amennyiben a beeső és szóródott fény hullámhossza különbözik, a **Raman-szóródás** jelensége lép fel: a szórt foton hullámhossza lehet nagyobb (Stokes-átmenet), vagy kisebb (anti-Stokes-átmenet).

A **Compton-effektus** során a beeső röntgenfoton rugalmasan ütközik az anyag egyik lazán kötött elektronjával az impulzusmegmaradás tételének alapján, melynek eredményeként a primer λ vonalon kívül egy $\lambda + \Delta\lambda$ hullámhosszúságú vonal is mérhető és $\Delta\lambda$ értéke a θ szóródási szöggel nő. Az indukált szórás során az ütköző elektron egy megfelelően gerjesztett állapotban lévő atomba vagy molekulába ütközik és az ütköző fotonnal azonos frekvenciájú, rezgési síkú és irányú foton keletkezik:

$$h \cdot \nu + E_1^* = 2h \cdot \nu + E_2,$$

ahol E_1 és E_2 a részecske belső energiája az ütközés előtt, illetve után, valamint * a gerjesztett állapot jele.

Ezzel az adott frekvencián fényerősítést lehet elérni. Ez a jelenség az indukált emisszió, amely a lézerek működésének az alapja.

Fényelnyelés (abszorpció)

Az **abszorpció** során az atomok, illetve molekulák elnyelik a beeső sugárzás bizonyos energiájú (hullámhosszú) komponenseinek egy részét, míg a sugárzás többi része továbbhalad és kilép a mintából. Ezt a kilépő sugárzást nevezük **transzmittált sugárzásnak**. Az elnyelés úgy jön létre, hogy a megfelelő energiájú fotonok rugalmatlan ütközésben átadják energiájukat az atomoknak, illetve molekuláknak.

Fénykibocsátás (emisszió)

Az abszorpció után a minta az energiától megszabadulhat **nem sugárzásos folyamatokban** (pl. ütközések által), vagy **fotonemisszióval**, ezt a folyamatot **fololumineszcenciának** nevezik.

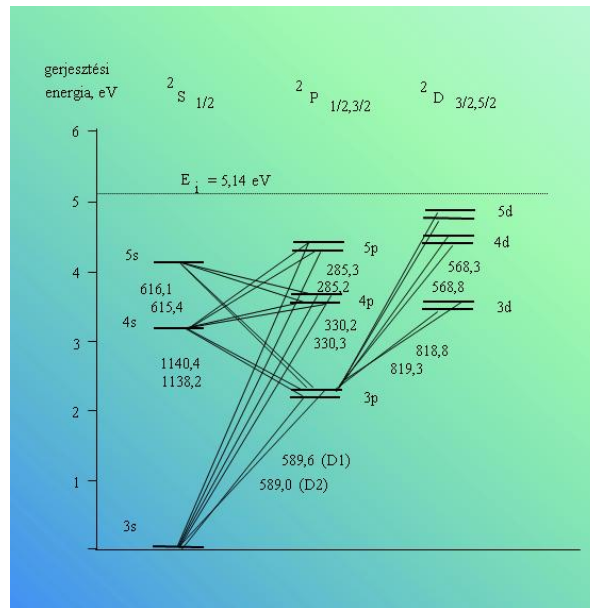
- **Fluoreszcencia:** ha az elnyelést gyorsan követi a fotonemisszió ($10^{-10} - 10^{-6}$ s),
- **Foszforeszcencia:** ha $10^{-4} - 10^4$ s után történik fotonemisszió.

A mintával nemcsak fénybesugárzással, hanem termikus folyamatokban, más molekulákkal, gyökökkel, ionokkal vagy atomokkal való ütközés által is közölhető energia.

- **Kemilumineszcencia:** ha kémiai reakciókban keletkezik olyan termék, amely felesleges energiájától fotonkisugárzással szabadul meg.

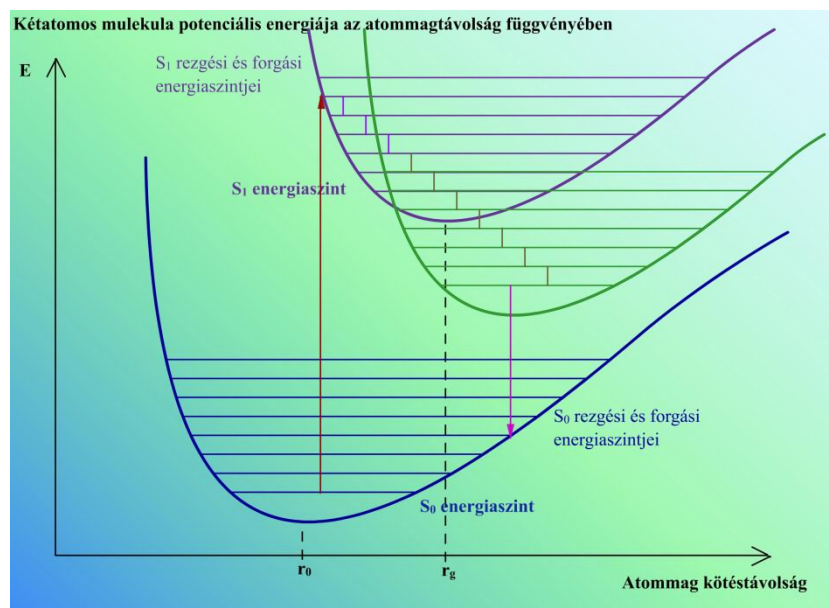
1.1.3. Az anyagban a kölcsönhatás során lejátszódó folyamatok

Az 1.1.3.1. ábra a nátriumatom ún. termdiagramja látható, mely tartalmazza az atompályákat és a hozzájuk tartozó energiákat, valamint a 3s pályán lévő elektron lehetséges átmeneteit. Abszorpciókor az elektron az alacsonyabb energiaszintű atompályáról a magasabb energiaszintű pályára kerül, míg emisszió esetén ennek a fordítottja történik. (Az átmenetekhez tartozó vonalak duplázódását az átmenetekben részt vevő elektronok eltérő spinkvantumszáma [\uparrow vagy \downarrow] okozza.) A spektrumban az egyes elektronátmeneteknek megfelelő **vonalak** jelennek meg.



1.1.3.1. ábra. A nátriumatom termdiagramja

Molekulák és az elektromágneses sugárzás kölcsönhatása során a molekula elektronenergiája, illetve a molekula rezgési és forgási energiaállapota változhat meg.



1.1.3.2. mozgó ábra. Kétatomos molekula potenciális energiája az atommagtávolság függvényében

- **S₀ energia szint:** az a legalacsonyabb energiaszintű ún. **szingulett állapot**, ahol az atommagok közötti kötést két, ellentétes spinű (\uparrow és \downarrow) elektron alkotja.
- **S₀ rezgési és forgási energiaszintjei:** ahol az S₀ energiaszinthezképesti többletenergia rezgési és forgási energiaként jelenik meg.

Abszorpció

Abszorpció bekövetkezhet mind a forgási és rezgési állapotok gerjesztésével, mind elektrongerjesztéssel. Az ábrán jól látható, hogy az elektrongerjesztés igényli a legtöbb energiát, például 1 mol anyagra vonatkoztatva a szükséges energia:

Gerjeszhető fény hullámhossza	Mit gerjeszt?	Szükséges energia 1 mol anyagra
$\lambda = 500 \text{ nm}$	elektronátmenetet	$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda}$ $6,63 \cdot 10^{-34} \text{ Js} \cdot \frac{3 \cdot 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}}{5 \cdot 10^{-7} \text{ m}} = 3,978 \cdot 10^{-15} \text{ kJ}$
$\lambda = 5,88 \mu\text{m}$	karbonilcsoport vegyértékrezgését	egy nagyságrenddel kisebb energia $20,4 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$
$\lambda = 200 \mu\text{m}$	forgási átmeneteket	még kevesebb energia szükséges $0,6 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$

1.1.3.1. táblázat. Az elektron-, a rezgési és a forgási átmenetek gerjesztéséhez szükséges energiák összehasonlítása

A nagyobb energiájú fotonok elnyelődésekor a kisebb energiaigényű változások is bekövetkezhetnek, ilyenkor az elnyelt foton energiája egyenlő az egyes változásokkal járó energiaszükségletek összegével.

Ugyanazt az elektrongerjesztési folyamatot többféle rezgési átmenet is kísérheti, ezért nemcsak egyféle energiájú foton nyelődhet el az adott elektrongerjesztéssel kapcsolatban, hanem többféle, **egymáshoz közeli energiájú foton is gerjeszthet a mintában azonos szerkezetű molekulákat**. Az egyes rezgési átmeneteket különféle forgási átmenetek kísérhetik, ez tovább növeli a lehetőségek számát. Ennek következtében **az adott elektronátmenethez több rezgési átmenet és azok mindegyikéhez sok forgási átmenet csatlakozik**, ezért **a molekulák elektronszínképe** (pontosabban az elektron-rezgési-forgási spektrum) az atomspektrumokkal ellentétben **sávós szerkezetű**, nem $0,005 - 0,03 \text{ nm}$ félértékszélességű vonalak, hanem $10 - 50 \text{ nm}$ félértékszélességű sávok vannak. Az egy adott elektronátmenethez tartozó sávok összességét sávrendszernek nevezik.

Az elektronátmeneteket vizsgálva figyelembe kell venni, hogy

- egyrészt, ha a rezgés gerjesztve van, akkor a molekula a legtöbbet a maximális kitérés helyzetében tartózkodik, tehát legnagyobb valószínűséggel az **elektron ide gerjesztődik (abszorpció)**, vagy innen **esik vissza (emisszió)**,
- másrészt az elektronátmenet jóval gyorsabb (10^{-15} s) az atomtörzsek elmozdulásánál (Franck–Condon-elv). A fent említett karbonilcsoport vegyértékrezgése esetében $\nu = 5,10 \cdot 10^{13} \text{ Hz}$, tehát egy rezgés időtartama mintegy $1,96 \cdot 10^{-14} \text{ s}$.

A gerjesztett állapotban a molekula általában rövid ideig tartózkodik: a felvett energiát leadhatja ütközéssel, illetve kémiai reakcióba is léphet.

- **Rezgési relaxáció** ($10^{-11} - 10^{-10} \text{ s}$) során leadhatják felesleges rezgési energiájukat és visszatérnek az adott energianívó rezgési alapszintjére.
- A **fluoreszcencia** során ($10^{-10} - 10^{-6} \text{ s}$) a molekula fényt sugároz ki, miközben visszatér az alap elektronállapotába.
- A **foszforencia** jelenségek a fénykisugárzás jóval hosszabb folyamat ($10^{-4} - 10^4 \text{ s}$). Ennek oka, hogy gerjesztett állapotban megváltozik az elektron spinállapota, új, az ún. **triplett állapot** jön létre, melyben az elektronok spinállapota párhuzamos (\uparrow és \uparrow) és a molekulához egy új potenciálgörbe fog tartozni.

Spinváltó átmenetnek („intersystem crossing”) nevezik a szingulett és triplett állapotok közötti átmenetet. A Hund-szabály értelmében a párhuzamos spinek állapota kisebb energiájú, mint a párosított spineknek megfelelő állapot, így a triplett állapothoz tartozó potenciálgörbéhez azonos

magtávolság esetén általában kisebb energiaérték tartozik, mint a szingulett állapothoz tartozó potenciálgörbéhez. További rezgési relaxációval jut el a molekula a tripllett állapot rezgési szintjére, majd fotonemisszióval kerül vissza az alapállapotba. Ez azonban hosszabb folyamat, mert a fotonemisszióval együtt az elektron spinállapotának is meg kell változnia.

A potenciálgörbe nagy atomtávolságokhoz tartozó szakaszán a rezgési állapotok torlódnak. A elektronátmenetek gerjesztésekor **a kötés disszociálódhat**, ha a molekula az előbb említett rezgési állapotba kerül. Disszociáció történhet akkor is, ha a gerjesztett állapot disszociatív jellegű, azaz a potenciálgörbén az energia a magtávolság növekedésével folyamatosan csökken, vagy a gerjesztett állapot potenciálgörbéje metszi egy disszociatív állapot potenciálgörbéjét, amikor a molekula átmehet az azonos multiplicitású disszociatív pályára (predisszociáció). A minta stabilitására vagy bomlékonyságára tehát gondolni kell a spektroszkópai mérések során.

1.1.4. A mennyiségi meghatározás alapjai

A mennyiségi meghatározáshoz – a spektroszkópai módszertől függően – szükséges:

- a beeső sugárzás (I_0),
- a transzmittált sugárzás (I_{tr}),
- az emittált sugárzás (I_e),
- a fluoreszcenciasugárzás (I_f),
- és a kemilumineszcenciás sugárzás (I_{kl}) intenzitásának ismerete.

Bouguer–Lambert-törvény

Az abszorpciós vizsgálatok tapasztalati megállapítása, hogy egy l rétegvastagságú homogén minta dl vastagságú elemi rétegei a beeső monokromatikus fénysugárzás azonos hányadát nyelik el, azaz:

$$\frac{I_0 - I_1}{I_0} = \frac{I_1 - I_2}{I_1} = \dots = \frac{I_{i-1} - I_i}{I_{i-1}}$$

Ez alapján felírható, hogy

$$\frac{dI}{I} = -k \cdot dl,$$

ahol a mínusz előjel azt mutatja, hogy dI és dl ellentétes előjelűek,

k arányossági tényező pedig az anyagra jellemző állandó, melynek értéke hullámhosszfüggő.

Az egyenlet bal oldalát $I = I_0$ és $I = I_{tr}$, jobboldalát $l = 0$ és $l = l$ határértékek közt integrálva

$$\int_{I_{tr}}^{I_0} \frac{1}{I} dI = -k \cdot \int_0^l 1 dl,$$

$$\ln \frac{I_0}{I_{tr}} = k \cdot l,$$

tíztes alapú logaritmusra áttérve, ($0,4343 = \lg e$):

$$\lg \frac{I_0}{I_{tr}} = 0,4343 \cdot k \cdot l.$$

Ezek az egyenletek a **fénynyelés és a rétegvastagság közti összefüggést** írják le.

Beer-törvény

A **hullámhosszat és a rétegvastagságot konstansnak tekintve** a koncentrációváltozásra hasonló összefüggés vezethető le, ekkor a foton elnyelő molekulák/atomok száma arányos a koncentrációval és a

$$\frac{dI}{I} = -k' \cdot dc$$

egyenletet a $c = 0$ és $c = c_0$ határértékek között integrálva a

$$\ln \frac{I_0}{I_{tr}} = k' \cdot c,$$

illetve a

$$\lg \frac{I_0}{I_{tr}} = 0,4343 \cdot k' \cdot c$$

összefüggés vezethető le, mely **Beer-törvény** néven ismert.

Bouguer–Lambert–Beer-törvény

Ha **mind a rétegvastagság, mind a koncentráció változik**, akkor a Bouguer–Lambert-törvény és a Beer-törvény egyesítésével a

$$\ln \frac{I_0}{I_{tr}} = a \cdot l \cdot c,$$

illetve a

$$\lg \frac{I_0}{I_{tr}} = 0,4343 \cdot a \cdot l \cdot c$$

egyenlethez, a **Bouguer–Lambert–Beer-törvény**hez jutunk.

- Amennyiben az oldat koncentrációját $\frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$, a rétegvastagságot cm mértékegységben adjuk meg, akkor a $0,4343 \cdot a$ arányossági tényező neve **moláris abszorpciós koefficiens** (ϵ).
- Ha tömegkoncentrációt használunk (pl.: $\frac{\text{g}}{\text{dm}^3}$), akkor az **abszorpciós koefficienssel** számolunk ϵ helyett.

Transzmittanciának (T [–]) nevezik a $\frac{I_{tr}}{I_0}$ hányadost (azaz százalékos fényáteresztésként definiáljuk):

$$T = \frac{I_{tr}}{I_0}.$$

Az **abszorbancia** (A [–]) a transzmittancia negatív logaritmus, tehát

$$A = -\lg T = \epsilon \cdot l \cdot c.$$

Abszorbancia (A)

Az **abszorbanciát** a koncentráció függvényében ábrázolva egyenest kapunk, mely átmegy az origón és iránytangense arányos a moláris abszorpciós koefficienssel. A moláris abszorpciós koefficiens (ϵ_l) tehát az adott hullámhosszon jellemzi az abszorbeáló anyag mérésének érzékenységét. Az abszorbancia additív mennyiség, n számú elnyelő komponens esetén:

$$A = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i \cdot l \cdot c_i.$$

Emittált fény intenzitása (I_e ; I_{kl})

Az **emissziós módszerek** esetében az adott hullámhosszon kibocsátott fény intenzitása állandó gerjesztési feltételek mellett arányos a koncentrációval és a rétegvastagsággal. Az arányossági tényező az anyagi minőségtől és készülékparamétereiktől függő állandó:

$$I_e = k_e \cdot l \cdot c.$$

Formailag hasonló összefüggés írja le a **kemilumineszcenciás** sugárzás (I_{kl}) intenzitásának koncentrációfüggését:

$$I_{kl} = k_{kl} \cdot l \cdot c.$$

Fluoreszcens fény intenzitása (I_f)

A **fluoreszcencia** sugárzás intenzitása arányos a gerjesztett állapotban lévő atomok, molekulák számával, melyek mennyiségét viszont befolyásolja a mintára sugárzott fény intenzitása, azaz:

$$I_f = \phi_F \cdot (I_0 - I_{tr})$$

ahol ϕ_F a fluoreszcencia során emittált, illetve elnyelt fotonok hányadosa (kvantumhatásfok).

Az egyenletet átrendezve és a Bouguer–Lambert–Beer-törvényt behelyettesítve:

$$I_f = \phi_F \cdot I_0 \cdot \left(1 - \frac{I_{tr}}{I_0}\right) = \phi_F \cdot I_0 \cdot (1 - T) = \phi_F \cdot I_0 \cdot (1 - 10^{-\varepsilon \cdot l \cdot c})$$

$$I_f = \phi_F \cdot I_0 \cdot (1 - e^{-\ln 10 \cdot (\varepsilon \cdot l \cdot c)}).$$

Az exponenciális függvény értéke azonban sorba fejtéssel megadható:

$$e^x = 1 + \sum_{i=1}^{\infty} \frac{x^i}{i!}$$

$$\text{valamint legyen } y = -x = \ln 10 \cdot (\varepsilon \cdot l \cdot c),$$

mely alapján I_f kifejezését sorba fejtve:

$$I_f = \phi_F \cdot I_0 \cdot \left[-\frac{-y}{1!} - \frac{(-y)^2}{2!} - \frac{(-y)^3}{3!} - \frac{(-y)^4}{4!} - \frac{(-y)^5}{5!} - \dots \right]$$

$$= \phi_F \cdot I_0 \cdot \left[y - \frac{y^2}{2!} + \frac{y^3}{3!} - \frac{y^4}{4!} + \frac{y^5}{5!} - \dots \right],$$

majd y értékét kiemelve

$$I_f = \phi_F \cdot I_0 \cdot y \left[1 - \frac{y}{2!} + \frac{y^2}{3!} - \frac{y^3}{4!} + \frac{y^4}{5!} - \dots \right]$$

Ha y értéke kicsi, úgy csak a sorozat első tagja szignifikáns és az egyenlet egyszerűsíthető:

$$I_f = \phi_F \cdot I_0 \cdot y = \phi_F \cdot I_0 \cdot \ln 10 \cdot (\varepsilon \cdot l \cdot c) = 2,3026 \cdot \phi_F \cdot I_0 \cdot \varepsilon \cdot l \cdot c$$

azaz a koncentráció és a fluoreszcencia intenzitása között lineáris összefüggés van, amennyiben a gerjesztési hullámhossznál mérhető abszorbanancia kicsi. Határesetben, amikor a minta elnyeli a teljes beeső sugárzást

$$I_f = \phi_F \cdot I_0.$$

Példa

„X” anyag $1,95 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú oldatának fényelnyelése ($\lambda = 500 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$) 72,7%. Mekkora a transzmittancia, az abszorbancia és „X” anyag moláris abszorpciós együtthatója?

Megoldás:

Ha a minta fényelnyelése 72,7%, akkor a fényből 27,3% érte el a detektort, tehát $T = 0,273$. Az abszorbancia, a transzmittancia és a moláris abszorpciós koefficiens között az

$$A = -\lg T = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

összefüggés érvényes, így

$$A = -\lg T = \lg 0,273 = 0,5638 \text{ és } \varepsilon_X^{500} = \frac{A}{l \cdot c} = \frac{0,5638}{1 \cdot 1,95 \cdot 10^{-3}} = 289,15 \frac{\text{dm}^3}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$$

1.2. AZ OPTIKAI SPEKTROMÉTEREK FELÉPÍTÉSE

Az optikai spektrométerek általában tartalmazznak

- fényforrást,
- hullámhossz kiválasztó egységet,
- mintateret,
- referenciateret,
- detektort és
- jelfeldolgozó egységet.

1.2.1. Fényforrások

Az abszorpciós spektrometriában használatos fényforrásoknak a mérések alatt:

- megfelelő teljesítményt kell sugározniuk a teljes hullámhossztartományban, valamint
- a sugárzás intenzitásának állandónak kell lennie.

Izzószálas vagy kisülési lámpák által kisugárzott fény intenzitása hatványozottan függ a tápfeszültségtől, így azt nagyon pontosan kell a megfelelő értéken tartani.

Molekulaspektroszkópai módszerekben

Melyik hullámhossztartományban mér?	Milyen fényforrást használ?
az ultraibolya tartományban	hidrogén-, vagy deutériumlámpát,
	nagynyomású xenonlámpát vagy kisnyomású higanygőzlámpát (fluoreszcenciaspektroszkópiában)
a látható és közeli infravörös tartományban	volfrámizzót,
a gyakorlatban jelentős infravörös tartományban	króm-nikkel ellenállás izzót, Nernst-izzót, Globar-izzót és szabályozható lézert (Raman-spektroszkópia),
a távoli infravörös tartományban	nagynyomású higanygőz lámpát

1.2.1.1. táblázat. A molekulaspektroszkópai módszerek fényforrásai

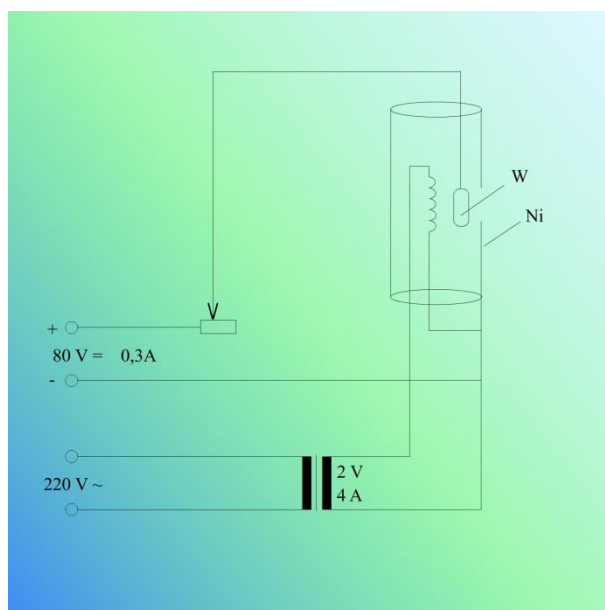
Atomspektroszkópai módszerekben

Az **atomspektroszkópai** módszereknél – noha az elektronátmenet energiája az ultraibolya, látható és közeli infravörös tartományba esik – a spektrum vonalas szerkezete miatt nem alkalmazhatóak a fentebb említett fényforrások, hanem speciális fényforrást, a vájtkatódú lámpát használják. A vájtkatódú lámpa hengeres alakú katódjában 3–4 mm átmérőjű zsákfurat van. A katód a meghatározni kívánt fémből készül. Amennyiben ez nem lehetséges (például a higany szobahőmérsékleten folyadék), akkor a fémet a katód belső felületére viszik fel ötvözetként. A volfram anód és a katód között 250–400 V feszültséget hoznak létre, melynek hatására az elektromos térben felgyorsuló elektronok a neon vagy argon töltőgázt ionizálják. Az ionok a katód felé haladva felgyorsulnak, a becsapódáskor elektronokat és szabadatomokat ütnek ki a katódüregebe, ahol a szabadatomok további ütközések hatására gerjesztődnek és vonalas atomspektromot emittálnak. A vájtkatódú lámpából az üvegbúra kvarcablakán kilépő fény a katódban található elemek vonalai mellett a töltőgáz vonalait is tartalmazza. A vonalak félértékszélessége a vájtkatódú lámpában lévő vákuumnak (4-10 mbar, 1 mbar = 100 Pa) köszönhetően kisebb, mint az atmoszférikus nyomáson működő atomforrások vonalszélessége, így a monokromatikusság feltétele (1.2.2 és 3.1.3 fejezetek) teljesül.

Izzószálas lámpák

Az izzószálas lámpákban vékony a volfrámszál nagy elektromos ellenállása miatt mintegy 3000-3500 K hőmérsékletre melegszik fel és a 350 nm és 2500 nm közti tartományban folytonos spektrumot ad. A nemesgáz töltőgázhoz halogén elemet, általában jódot, adva a lámpa élettartama megnövelhető, mert az izzószálról elszublimált és a lámpa kvarcbúrájának belső falára lerakódott volfrám a jóddal WI_2 vegyületet képez. A WI_2 visszadiffundál a szálra, ahol termikusan elbomlik és a volfrámatomok újra lerakódnak a szálra. Mivel a ciklus során a búra a lerakódott volfrámtól folyamatosan tisztul, ezért a lámpa fényerejét is jobban megtartja és a lámpa élettartamának végén is eléri az eredeti fényerő 90%-át.

A hidrogén- és deutériumlámpákban izzószál segítségével gyújtják be az ívkisülést. Hidrogén helyett deutériumot használva töltőgázként a lámpa fényintenzitása majd a háromszorosára nő. A lámpák 360 nm alatt intenzív spektrumot szolgáltatnak, mely megfelel a legtöbb ultraibolya tartományban végzendő vizsgálat számára. A mérési hullámhossztartomány alsó határát (160 nm) a lámpák kvarcbúrája határozza meg.



1.2.1.1. ábra. Hidrogén kisülési lámpa

Nagynyomású xenonlámpa

A nagy nyomású xenonlámpa emissziója igen erős a 200 – 1300 nm hullámhossztartományban. A nagy fényintenzitás szükséges, mert a mintát érő sugárzásnak csak egy része abszorbeálódik, az abszorpció következtében gerjesztett állapotba került molekuláknak csak egy hányada emittál fényt és azt is tér minden irányába azonos valószínűséggel. Működési elvük a hidrogénlámpákhoz hasonlóan ívkisülésen alapul. A kisnyomású higanygőzlámpát 250 - 550 nm tartományban alkalmazzák. A lámpa éles spektrumvonalakon sugároz, de a lámpa búróját foszforeszkáló anyaggal bevonva a sugárzás spektruma majdnem folytonossá tehető.

Króm-nikkel ellenállás izzóban

A króm-nikkel ellenállás izzóban krómnikkel szál a sugárforrás, melynek felületén lévő oxidréteg van és ez az oxidréteg a szál elektromos hevítése során (1400 K) majdnem a teljes infravörös tartományban emittál. Megbízható, de nem túl erős emissziójú fényforrás. A Nernst-izzó 1200 – 2200 K hőmérsékletre felfűtött, Zr-, Th- és Y-oxidokból készült hengeres fűtőtest. Ahhoz, hogy elektromos vezetővé váljon, elő kell melegíteni. A Globar-izzó 1300 – 1500 K közötti hőmérsékletre fűtött szilícium-karbid rúd, mintegy 200 cm^{-1} hullámszámig használható.

He-Ne; az argonion és Nd:YAG lézer

A Raman-spektroszkópiában leggyakrabban használt lézerek a He-Ne ($\lambda = 633\text{ nm}$), az argonion lézer ($\lambda = 488$ és 515 nm), a félvezető dióda ($\lambda = 670 - 860\text{ nm}$) és a Nd:YAG ($\lambda = 532$ (frekvenciakettőzés) és 1064 nm) lézerek. Az infravörös tartományban működő lézerek egyrészt nagyobb teljesítménnyel üzemeltethetők a minta fotodisszociációja nélkül, másrészt a mintában nem okoznak elektronátmenetet és így fluoreszcenciás zavarás is jóval kisebb mértékben lép fel.

1.2.2. A hullámhossz kiválasztás lehetőségei

A mennyiségi meghatározáshoz a megfelelő hullámhossz kiválasztása szükséges, mert

- a mintát a zavaró komponensek jellemző hullámhosszától eltérő hullámhosszon szükséges detektálni,
- illetve a Bouguer–Lambert–Beer-törvény is szigorúan csak monokromatikus fényre érvényes.

A fényfelbontás mértékének jellemzésére a spektrális sáv szélesség ($\Delta\lambda$ [nm]), a folytonos sugárzásból a fényfelbontó berendezéssel kihalított hullámhossztartomány adható meg.

A hullámhossztartomány kiválasztása történhet:

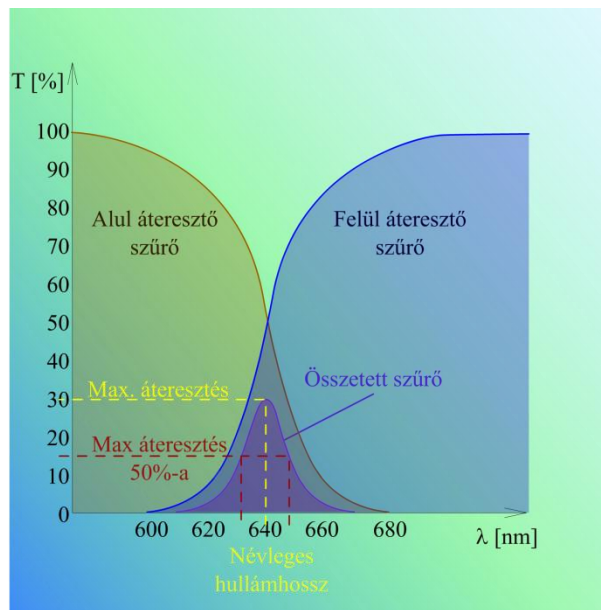
- kis felbontású eszközökkel, pl.: optikai szűrőkkel, interferenciaszűrőkkel,
- nagyobb felbontású diszperziós elvű (rácsos vagy prizmás) monokromátorral, polikromátorral,
- vagy nemdiszperziós elvű interferométerekkel.

Abszorpciós szűrők

- A nem kívánt hullámhosszakat elnyeléssel tartják vissza.
- Színes üvegből, színes zselatinból vagy színes oldatokból készülnek,
- Transzmittanciájuk a Bouguer–Lambert-törvénynek megfelelően a rétegvastagság növekedésével exponenciálisan csökken.

Fényszóráson alapuló szűrők

- Sajátságai a bennük lévő szóró kristályok tulajdonságaitól függenek.
- Gyakran alkalmaznak együtt felül- és aluláteresztő szűrőket, az így kapott szűrő áteresztőképessége viszonylag keskeny (20 – 50 nm).



1.2.2.1. ábra. Összetett üvegszűrők spektrális jellemzői

Az interferenciaszűrők működése

- Az interferáló fénysugarak fáziskülönbsége okozta kioltáson alapszik.
- A szűrőben két átlátszó lemez között átlátszó dielektrikum (CaF_2 , MgF_2 , SiO_2) található.
- A lemezek belső fala vékony ezüstfilmmel van bevonva, mely részben átereszt, részben visszaveri a beeső sugárzást.
- Ha a változatlanul áthaladó és a visszaverődő fénysugár fázisban van, akkor erősítik, ellentétes esetben gyengítik, vagy teljesen kioltják egymást. A visszaverődő és a változatlanul áthaladó fény akkor van azonos fázisban, ha teljesül a következő egyenlet:

$$2 \cdot d \cdot n = k \cdot \lambda,$$

ahol d a fény által a két lemez belső falai között a dielektrikumban megtett út,
 n a dielektrikum törésmutatója,
 k arányossági tényező, egész szám.

Az egyenletből következik, hogy az interferenciaszűrőn áthaladó fénysugárzás az adott hullámhossz felharmonikusait is tartalmazza. Vannak olyan szűrők, melyekben d értéke és ezzel együtt az átengedett fény hullámhossza változtatható. A többrétegű szűrőkben több, különböző törésmutatójú dielektrikumréteg van, melyek segítségével az interferenciaszűrők szokásos áteresztőképessége (5 – 20 nm) jelentősen csökkenthető. Az egyszerűbb és olcsóbb szűrők készülékek biztosítják ugyan a kiválasztott hullámhossztartományban történő mérés lehetőségét, de a hullámhossz pásztázását, spektrum felvételét nem teszik lehetővé.

1.2.3. Monokromátorok

A monokromátorok be- és kilépő réseket, tükröket, lencsákat és fényfelbontó egységet tartalmaznak.

A fényforrás polikromatikus sugárzásának különböző hullámhosszúságú komponenseit a fényfelbontó egység különböző irányokba téríti el a térben (diszperzió), melyek közül egy adott hullámhosszú és sávzélességű monokromatikus sugárzás kiválasztható. A monokromátorok alkalmazhatóak a diszperziós elvű készülékekben, melyekben a fényfelbontó egységet motorral forgatva a kiválasztott hullámhossz az időben folyamatosan változik, így „letapogatható” a minta.

A **polikromátorok** egyszerre több, eltérő hullámhosszúságú fénysugárzást képesek kiválasztani. A közepes felbontású mono- és polikromátorok $0,1 - 2 \text{ nm}$, a nagy felbontású monokromátorok, polikromátorok $0,001 - 0,1 \text{ nm}$ spektrális sáv szélesség elérését teszik lehetővé.

A **résszélesség növelésével** több sugárzás halad át a mintán, de növekszik az áteresztett fény sáv szélessége. Túl kis résszélesség alkalmazása esetén kevés sugárzás éri a mintát, csökken a mérés érzékenysége és a jel/zaj viszony, viszont jobban vizsgálható a spektrum finomszerkezete.

A **tükrök és lencsék** segítségével fókuszálják és kollimálják (széttartó fénynyalábot párhuzamossá teszik) a sugárnyalábot.

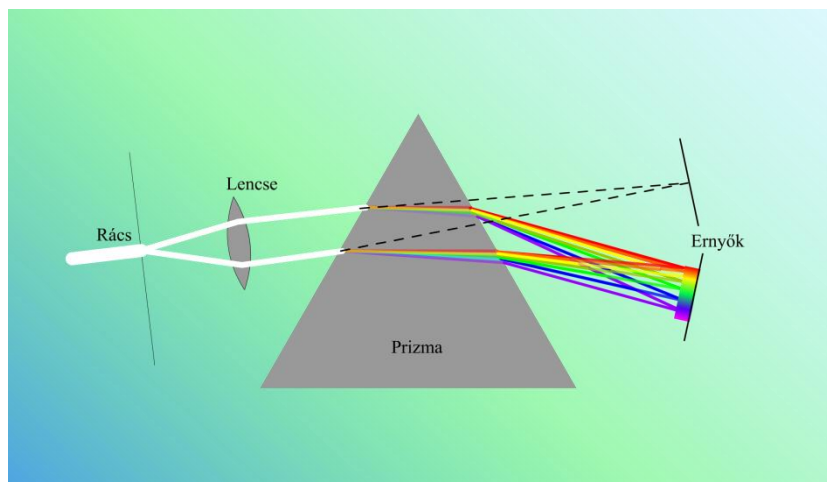
A monokromátorok fő jellemzői:

- a felbontóképesség,
- a diszperzió nagysága,
- a kiválasztott spektrális tartomány és annak tisztasága.

A felbontóképesség az éppen felbontott vonalak hullámhosszai átlagának és a vonalak közti hullámhosszkülönbségnek a hányadosa. A prizmás monokromátorok felbontóképessége azon alapszik, hogy a beeső fény törésmutatója (n) változik a fény hullámhosszával (λ), rövidebb hullámhosszú fény törése nagyobb.

Prizma

A **prizma** felbontóképességét tehát a $\frac{dn}{d\lambda}$ hányados határozza meg. A felbontóképesség nem konstans, hanem nő a kisebb hullámhosszak felé haladva.



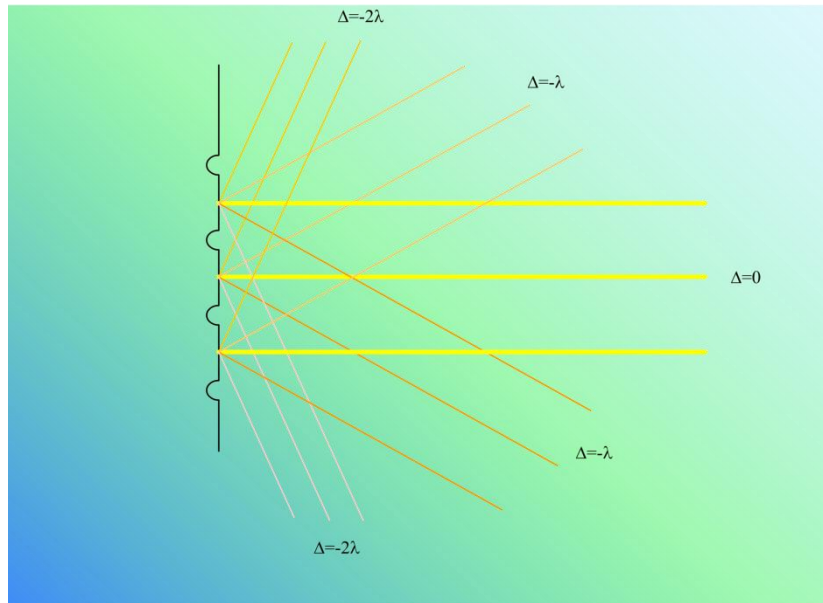
1.2.3.1. ábra. A prizma fényfelbontása

Optikai rács

A monokromátorok másik típusában a fény felbontására **optikai rácsot** alkalmaznak.

Az optikai rács olyan átlátszó, vagy tükröző lemez, amelyen sűrűn, a rács sugárzás hullámhosszával összemérhető mértékben egymástól azonos távolságban párhuzamos rovátkák vannak. Az infravörös tartományban mintegy 20, az UV-VIS-tartományban akár 4000 karcolás is lehet milliméterenként.

A karcolás helyén a rács a fényt nem engedi át, illetve nem szabályosan veri vissza.



1.2.3.2. mozgó ábra. Reflexiós rács működési elve

Az 1.2.3.2. mozgó ábra a reflexiós rács sík felületeiről visszavert sugarakat mutatja, a sugarak egy adott pontban interferálnak.

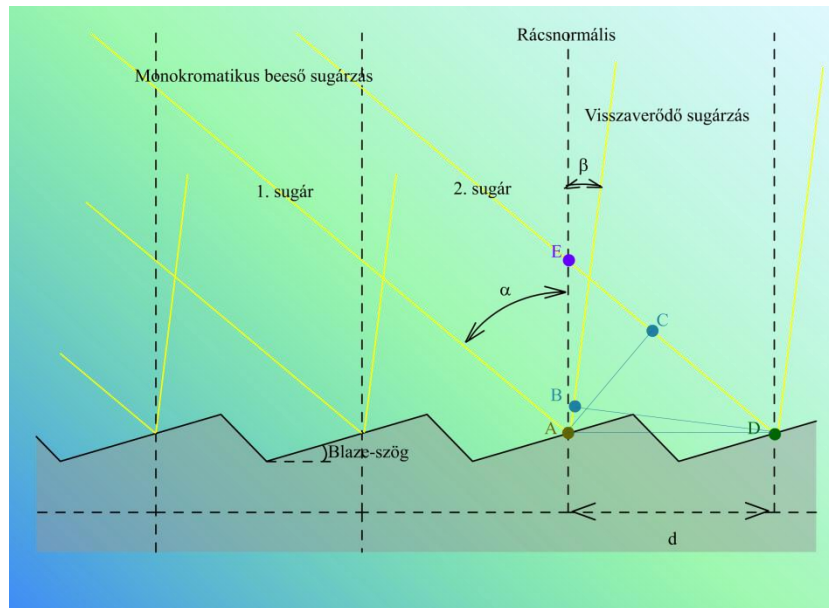
- **Erősítik egymást** és a spektrum megfelelő helyén **intenzitásmaximum** észlelhető, ha a sugarak által megtett úthosszak különbsége (Δ) a hullámhossz egész számú többszöröse, azaz $\Delta = k \cdot \lambda$.

(A kifejezés formailag majdnem azonos az interferenciaszűrőnél leírttal, csak $2d$ – dielektrikumban megtett úthossz – helyett Δ , az útkülönbség szerepel, valamint a levegő törésmutatója a vákuum törésmutatójával azonosnak tekinthető.)

A polikromatikus sugárzás komponenseinek hullámhosszai különböznek, így ezek a maximumok eltérő helyeken vannak, kivéve, ha $k = 0$, mert ekkor az intenzitásmaximum a hullámhossztól független. A $k = 1, 2, 3, \dots$ értékeknek megfelelő irányokhoz tartozó vonalak az első-, másod-, harmadrendű elhajlási vonalak. Természetesen egy adott helyen nemcsak a λ hullámhosszú sugárzásnak, hanem annak felhangjainak ($\lambda/2, \lambda/3, \dots$) is intenzitásmaximumuk van.

Echelle-rács

Manapság reflexiós-diffrakciós fűrészfogazott, „echelle”-rácsokat használnak. Minden egyes lépcső a rács normálisához képest α szöggel ráeső fényt β szöggel veri vissza.



1.2.3.3. ábra. Echelle-rács működési elve

Az 1.2.3.3. ábra látható, hogy a rács eléréséig „2” sugár CD távolsággal nagyobb utat tesz meg, míg a visszaverődés után „1” sugár tesz meg az AB távolsággal nagyobb utat, így az eredő útkülönbség:

$$\Delta = CD - AB = k \cdot \lambda.$$

Mivel ADB derékszögű háromszög, ezért ADB szög nagysága megegyezik β szög nagyságával. Az ábráról leolvasható, hogy DEA szög ugyanakkora, mint α és ADE és ACD háromszögek hasonlósága miatt (mindkét háromszög derékszögű és ADC szögük is közös) CAD szögnek is α nagyságúnak kell lennie. Így CD és AB távolságokra felírható, hogy:

$$CD = d \cdot \sin \alpha, \text{ és } AB = d \cdot \sin \beta,$$

ahol d a rácsállandó.

Az eredő útkülönbség felírható α és β szögek függvényében, ez az ún. **rácsegyenlet**:

$$\Delta = k \cdot \lambda = d \cdot (\sin \alpha - \sin \beta).$$

Hasonlóképp levezethető, hogy **ha a beeső és visszavert fény a rácsnormális ugyanazon oldalára esik**, akkor a rácsegyenlet a

$$\Delta = k \cdot \lambda = d \cdot (\sin \alpha + \sin \beta)$$

összefüggéssel írható fel.

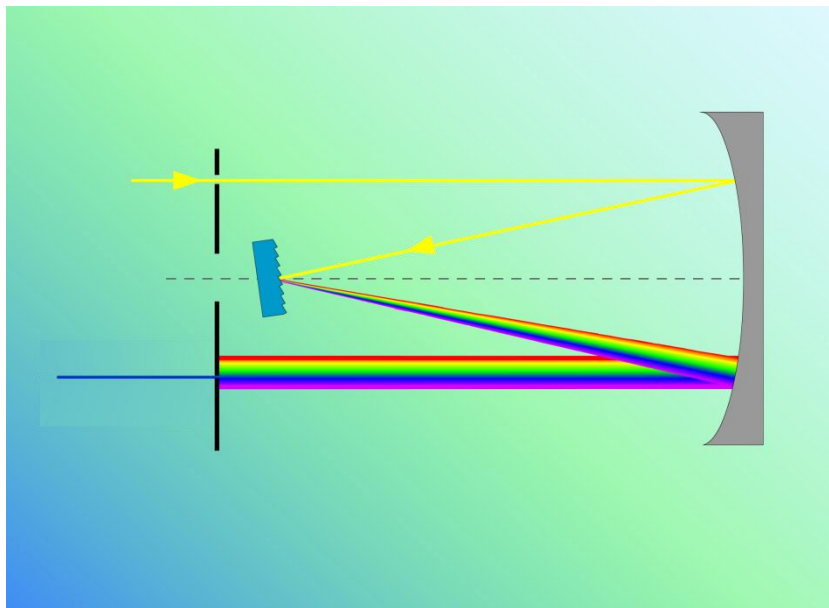
Noha a sugárzás az „Echelle”-rács felületéről minden irányban szóródik, a sík felület törésszöge (Blaze-szög) alatt szórt sugárzás a legintenzívebb. Különböző szöggel kialakított rácsokat készítenek, hogy a beeső szög olyan szögben verődjön vissza, amely a legintenzívebb hullámhossznak felel meg. A rácsok nagy előnye a prizmákkal szemben, hogy a diszperzió lineáris. Ugyanakkor gyártanak olyan kettős monokromátorokat, melyekben az első monokromátor fényfelbontó egysége prizma, míg a második monokromátoré rács. Itt a prizma mint spektrumrendválogató szerepel, mely a második monokromátor számára csak egyetlen spektrumot továbbít. Ennél a megoldásnál a diszperzió és a felbontás mintegy a kétszeresére növekszik, ugyanakkor a transzmisszió a felére csökken.

Az optikai rács készítésekor mechanikus úton, különleges osztógéppel (Jedlik 1845 körül 1200, míg Rowland 1882-ben 1800 karcolást ejtett milliméterenként), vagy lézer alkalmazásával hozzák létre a karcolatokat és érik el a szükséges rovátka/mm sűrűséget. A lézerekkel készített rácsokat holografikus rácsoknak nevezik. A rácskészítés során két kollimált monokromatikus lézerfényt interferáltatnak, a

keletkezett interferenciasávokat igen vékony ($10\ \mu\text{m}$), fényérzékeny műanyagfilmmel bevont üveglapra vetítik. Ahol a két lézersugár fázisban éri el a műanyagot, ott az polimerizálódik és hozzátapad az üvegfelülethez, a többi helyről a műanyag megfelelő oldószerrel leoldható. Az így elkészített műanyagrácsot bevonják alumíniummal, arannyal, vagy platínával. A módszer előnye, hogy a karcolási hibák száma a holografikus rácsok esetén jóval kisebb a mechanikus úton előállított rácsokénál, melynek következménye a nagy fényerő és a minimális szórt fény.

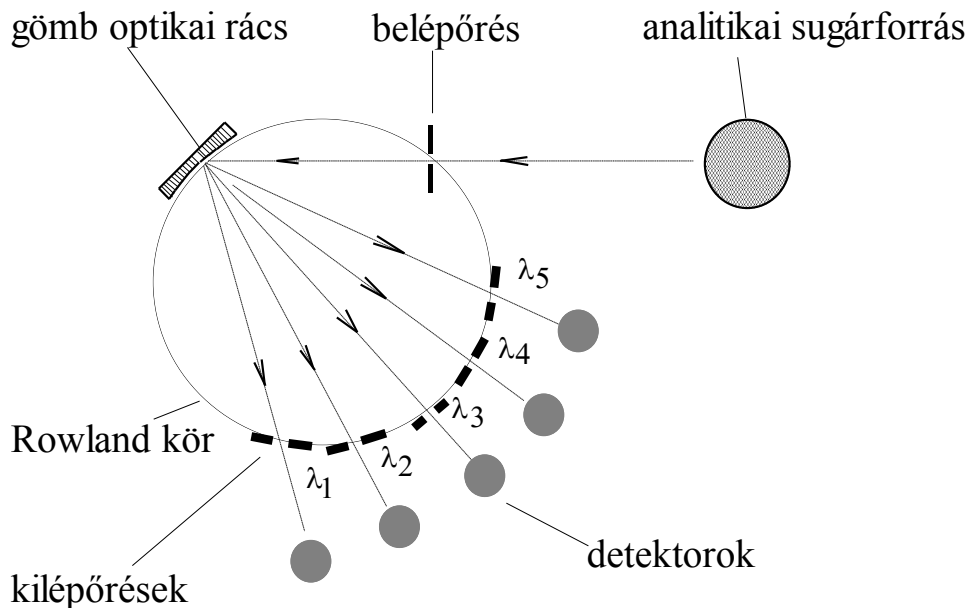
A rácskészítés nehéz, precíziós feladat, ezért nem külön készítenek el minden egyes darabot, hanem elkészítik az adott rács prototípusát, majd erről vákuumporlasztással, vagy műanyaglevonatok készítésével állítanak elő másolatot.

Ebert elrendezésű síkrácsos monokromátor



1.2.3.4. mozgó ábra. Ebert elrendezésű síkrácsos monokromátor működési elve

Az Ebert elrendezésű síkrácsos monokromátorban egyetlen konkáv gömbtükör látja el a kollimáló és fókuszáló szerepet. A belépő résen áthaladó sugárzás gömbtükörrre esik, ami párhuzamos sugárnyalábot képez és azt vetíti a reflexiós rácsra. A hullámhosszat a rács elfordításával lehet kiválasztani. A rácsról a különböző hullámhosszú sugarak eltérő szögben, párhuzamos nyaláokban reflektálódnak, amit a gömbtükör egy másik része leképez a kilépő rés síkjára. A rács felbontása (nm/mm) az elsőrendű spektrumban kisebb, mint a magasabb rendű spektrumokban. A Czerny–Turner rendszerű rácsos monokromátor hasonlóan működik, de a kollimátor tükör és a leképező tükör két különálló gömbtükör. Ezeket a monokromátor típusokat használják a UV-VIS-spektrofotométerekben, a diszperziós IR-készülékekben, az atomabszorpciós, ICP-OES-készülékekben és a fluoreszcenciás készülékekben.

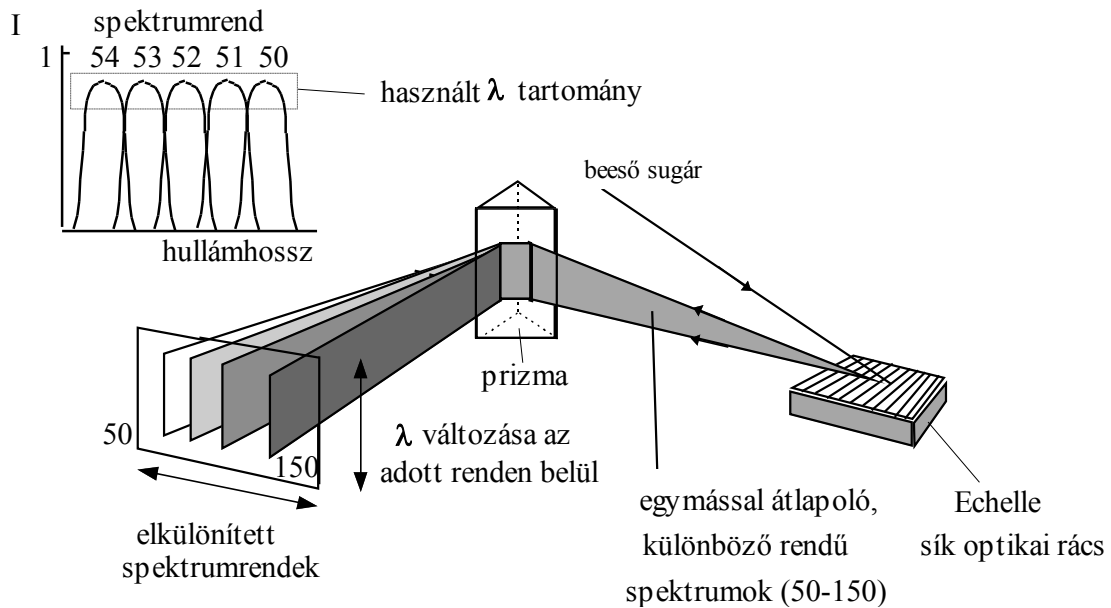
Pashen–Runge elrendezésű polikromátor

1.2.3.5. ábra. Pashen–Runge elrendezésű polikromátor

A polikromátoros készülékek egyik alaptípusa a Pashen–Runge elrendezésű polikromátor. Ebben a készülékben reflexiós gömb optikai rácsot alkalmaznak, amely egyidejűleg elvégzi a sugárzás spektrális felbontását és a leképezési funkciót is. A felépítés jellegzetessége, hogy a $2R$ sugarú rácsot az R sugarú ún. Rowland körön helyezik el és a Rowland körön kell a belépő rést és a kilépő réseket is elhelyezni. A $0,5\text{--}1,5\text{m}$ fókusz távolságú készülékekbe $24\text{--}64$ csatorna építhető be. A kilépő résen áthaladó sugárzást általában tükrökkel vetítik a detektorra, de használnak száloptikát is erre a célra. A Paschen–Runge polikromátort elterjedten használják a szikra spektrométerekben és ICP-spektrométerekben. Az első, második és a harmadik spektrumrendbe eső vonalakat használják.

Echelle-rácsos polikromátor

Ha nagyobb spektrális felbontás szükséges, akkor az „echelle”-rácsos polikromátorokat alkalmazzák. Ebben a készülékben az optikai rácsról reflektált sugárzást csak egy kis szögtartományban használják, ahol nagyon jó a fényhasznosítás és az $50\text{--}150$. rendű spektrumok szeleteivel fedik le az UV-VIS-spektrumtartományt. A rácsról reflektált, egymással átlapoló, különböző rendű spektrumszeleteket egy második diszperzív elemmel, prizmaival bontják fel az előzőre merőleges síkban. Így a különböző rendű spektrumszeletek egymás mellé kerülnek és kétdimenziós spektrum keletkezik. A kétdimenziós spektrumhoz tervezett, CCD-(charge coupled device) detektor $5000\text{--}70000$ detektorelemet is tartalmazhat és egyidejűleg képes nagyszámú spektrumvonalat és a környezetét is detektálni. Ezt az optikai elrendezést elsősorban a modern ICP-spektrométerekben alkalmazzák.



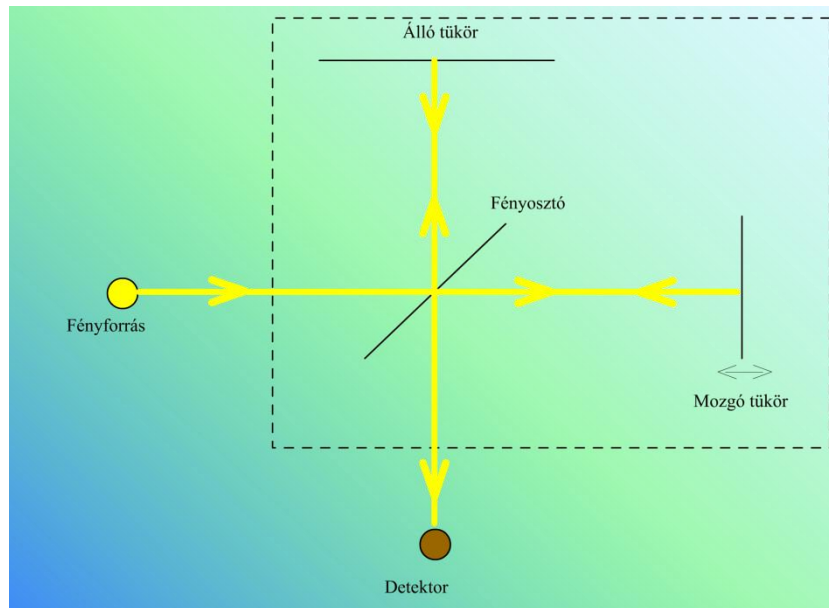
1.2.3.6. ábra. Echelle-rácsos polikromátor

Fourier-transzformációs spektrométerek

A diszperziós elven működő spektrométerekben a monokromátor egyidejűleg csak egy hullámhosszt választ ki, ez kerül a detektorra, ezért az egész spektrum felvételéhez végig kell pásztázni a teljes hullámhossztartományt. Az ún. Fourier-transzformációs spektrométerekben egyidejűleg a teljes spektrum detektálható. A főleg infravörös tartományban alkalmazott készülékek nem polikromátort, hanem interferométert tartalmaznak, a spektrum az idő függvényében detektált jelből (interferogram) matematikai művelet, a Fourier-transzformáció segítségével állítható elő.

Interferométer

Az interferométer működése a Michelson-interferométeren érthető meg, mely a legelső ilyen konstrukció (1891) és ma is a leggyakoribb.



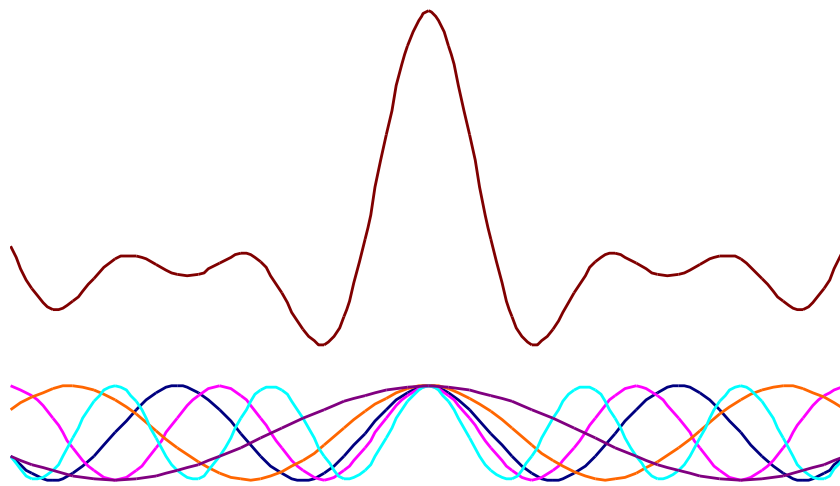
1.2.3.7. ábra. Michelson-interferométer

Az interferométer egy fényosztóból és egy mozgó, illetve álló tükörből áll. A fényforrásból kilépő fénysugarat parabolatükör vagy kollimátorlencse kollimálja (párhuzamosítja), majd a sugárzás a 40–60°-os beesési szöggel a fényosztóra jut. A fényosztó anyaga legtöbbször az infravörös sugárzás számára átlátszó KBr vagy CsI, felülete vékony germánium-, vagy szilíciumfilmmel van bevonva. A fényosztó tehát egy féligáteresztő tükör, mely – ideális esetben – a ráeső sugárzás 50 %-át áttereszti a mozgó tükör felé, 50 %-át pedig visszaveri az álló tükörről. Az álló és mozgó tükörről visszavert sugarak a fényosztón áthaladnak, illetve reflektált része a detektor felé haladó sugárnyaláiban egyesül és ott interferál a két sugármenet pillanatnyi útkülönbségének megfelelően. Amennyiben a két fényút közötti útkülönbség nulla, ekkor a hullámok azonos fázisban lesznek és az interferencia eredményeként erősítik egymást, a detektor maximális intenzitást érzékel. Ettől eltérő útkülönbség esetén részleges, illetve a mozgó tükröt $\lambda/4$ távolsággal elmozgatva ($\lambda/2$ útkülönbség) esetében teljes kioltás következik be. A mozgó tükröt újabb $\lambda/4$ távolsággal elmozgatva (λ útkülönbség) a hullámok újra azonos fázisban lesznek és a detektor ismét maximális intenzitást mér. A detektor tehát a mozgó tükör elmozdulásának függvényében periodikus, koszinusz jellegű intenzitásgörbét érzékel, melynek intenzitása maximális, ha a két fényút közötti útkülönbség nulla, vagy megegyezik a sugárzás hullámhosszával egész számú többszörösével. Egy periódus hossza a monokromatikus sugárzás hullámhosszával arányos. Áttérve a polikromatikus esetre a sugárnyaláiban levő összes hullámhosszú sugárzás ilyen jellegű intenzitásgörbét képez a mozgó tükör mozgatása során, de az eltérő hullámhosszból adódóan eltérő periódushosszakkal. Az interferométert modulátornak is nevezik, mert a 10^{12} – 10^{15} Hz frekvenciájú időben egyenletes intenzitású infravörös sugárzást 10^{10} -szer kisebb, vagyis 1 kHz frekvenciával koszinuszosan váltakozó intenzitású jellé alakítja. Erre azért van szükség, mert a nagyfrekvenciás jelek változását a detektorok nem tudják követni. A fényforrás által kibocsátott összes, ily módon modulált hullámhosszú sugárzás eredője az **interferogram**.

Az interferogramból Fourier-transzformációval kapható meg az infravörös spektrum. A Fourier-transzformáció definíciója a koszinusz függvényre:

$$F(\nu) = \frac{1}{\sqrt{2 \cdot \pi}} \cdot \int_{-\infty}^{\infty} \cos(\nu \cdot t) \cdot f(t) dt,$$

ahol t az idő és ν a frekvencia.



1.2.3.8. ábra. Interferogram (5 különböző hullámhosszú komponenst tartalmazó polikromatikus sugárzás esetén)

Méréstechnikai szempontból nagyon fontos, hogy az interferogramból azonos útkülönbségeknél történjen mintavétel, mert a számítógépek digitális adatokat tudnak kezelni. A mintavételezés szinkronizálására általában egy 632,8 nm hullámhosszú He-Ne lézer szolgál, melynek monokromatikus sugárzása a méréskor szintén az interferométeren halad át, és a lézersugár zérus intenzitású interferenciahelyeinek megfelelő időpontban történik az interferogramból a mintavétel. Az interferométert használó készülékek felbontása sokkal jobb a diszperziós készülékekénél, az erre a célra kifejlesztett spektrométerekkel $0,001 \text{ cm}^{-1}$ is elérhető.

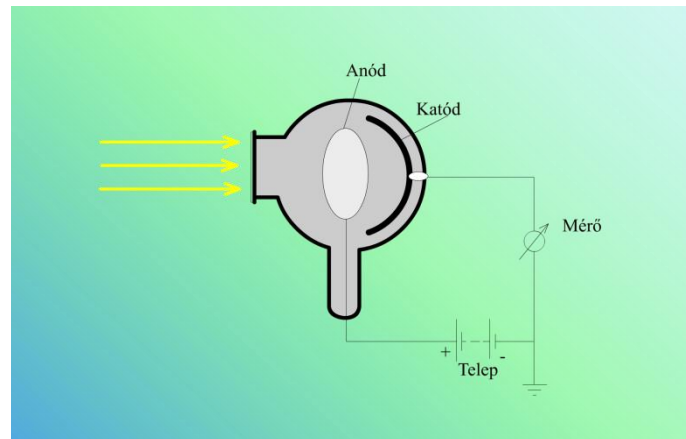
1.2.4. UV-VIS-tartományban használható detektorok

A fénysugárzás detektálása többféle módon lehetséges. Az UV-VIS-tartományban a detektor a beeső fényt elektronáramlássá (azaz elektromos árammá) vagy feszültséggé alakítja. Alkalmazznak:

- fotocellát,
- fotoelektron-sokszorozót,
- fotodiódát, diódasoros detektort,
- CCD- (charge coupled device), illetve CID- (charge injection device) detektorokat.

Fotocella

A fotocella vákuum alá helyezett üveg-, vagy kvarccsővében nagy felületű, negatív töltésű fotokatód és egy vékony huzalból álló, pozitív töltésű anód van.



1.2.4.1. ábra. Fotocella felépítése

A **fotokatód** belső felülete fényérzékeny réteggel (Ag-O-Cs, Ga-In-As, Cs-Te, stb.) van bevonva, amely anyagi minősége meghatározza, hogy a fotocella mennyire érzékeny egy adott hullámhosszú fénysugárzás mérésére.

1. Megvilágításkor a **fotokatódba ütköző fotonok átadják energiájukat** a fotokatód anyagának.
2. Az átadott energia arra fordítódik, hogy a fotokatódból **elektronok lökődnek ki**, melyek az elektromos tér hatására az **anód felé áramlanak**.
3. A keletkező áram kicsi, csak **erősítés után mérhető**, nagysága arányos a fotokatódra beeső sugárzás intenzitásával és függ a fotonok energiájától.

A fotocellák érzékenysége nemesgáz alkalmazásával növelhető, az elektronok a nemesgázatomokkal ütközve azokat ionizálják, a keletkező ionok és elektronok, további nemesgázatomokat ionizálnak, így nagymértékű erősítés érhető el, melynek nagysága befolyásolható a katód és az anód között fenntartott feszültségkülönbséggel.

Fotoelektron-sokszorozó

A fotoelektron-sokszorozó (PMT, Photomultiplier tube) működése szekunder elektronemisszió alapult.

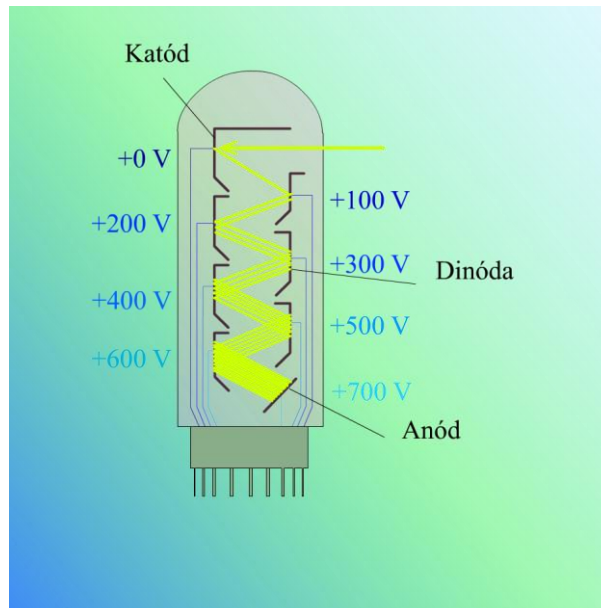
1. Hasonlóan a fotocellához a megvilágítás hatására a **fotokatódból elektron lép ki**,
2. **mely** a katód és az első elektród (dinóda) között fennálló mintegy 100 V feszültségkülönbség hatására **felgyorsul** és
3. az első **dinódába beleütközve kinetikus energiáját átadja**, aminek hatására
4. a **dinóda** speciális anyaggal (CsSb, BeO, GaP) bevont **felületéről 4–5 elektron lökődik ki**.
5. A jelenség **dinódáról dinódára haladva megismétlődik**, a dinódákról kilökött elektronok száma hatványozottan nő, így a fotoelektron-sokszorozóban 10^6 – 10^{10} -szeres erősítés érhető el.

Ezáltal a fotoelektron-sokszorozóval sokkal kisebb sugárzás detektálható, mint fotocellával, ugyanakkor csak kis teljesítményű sugárzások detektálására használják.

A nagy erősítésű fotoelektron-sokszorozókkal a fotokatódra eső egyetlen foton által keltett áramimpulzust is lehet detektálni (fotonszámlálás).

Fotoelektron-sokszorozó típusa	Melyik tartományban érzékelnek?
Bialkáli fotokatóddal (Sb-Rb-Cs) rendelkezik	a 190–650 nm
a modern Ga-As fotokatódot tartalmaz	a 190–900 nm
a Cs-Te fotokatóddal rendelkezik	a 190–300 nm tartományban érzékeny, a látható fényre érzéketlen („solar-blind”)

A fotokatódot és a dinódákat lineárisan, vagy körkörös formában helyezik el.

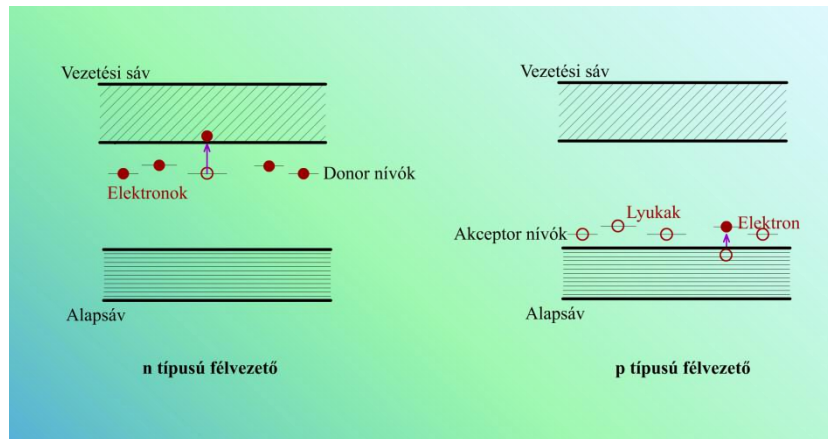


1.2.4.2. ábra. Fotoelektron-sokszorozó felépítése

Fotodióda

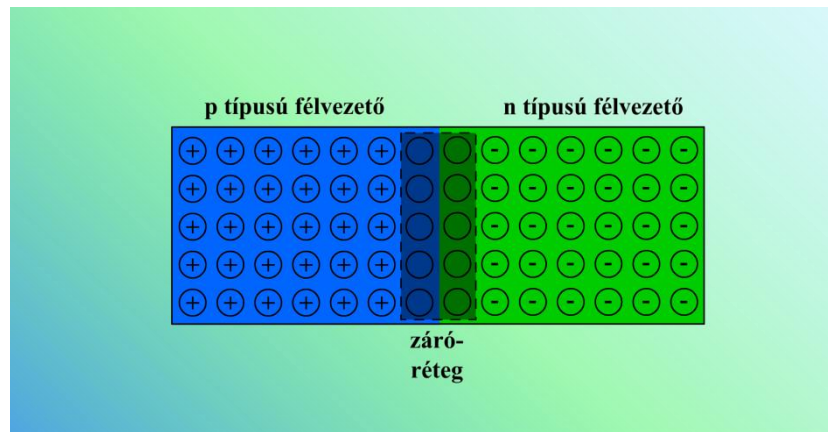
A fotodiódák működésének ismertetése előtt pár szót kell szólnunk a **félvezetőről**.

- A germánium és a szilícium négy vegyértékelektronnal rendelkező elemek, melyek kovalens kötéssel kapcsolódnak egymáshoz, létrehozva a gyémánttípusú kristályrácsot. Az ideális germániumkristály:
 - alacsony hőmérsékleten szigetelő, mivel nem tartalmaz mozgásra képes töltéshordozókat,
 - magasabb hőmérsékleten
 1. egyes elektronok kiszabadulnak a kötésből (a kristályban lévő kötés energiaszintjének megfelelő ún. **alapsávból** az ún. **vezetési sávba** kerülnek)
 2. és az elektromos tér hatására elmozdulnak, vezetést hoznak létre.
 3. A kiszabadult elektron helyén egy pozitív lyuk (elektronhiány, defektus-elektron) keletkezik, melybe
 4. egy másik kötés elektronja, annak a helyére pedig egy harmadik elektron ugorhat be,
 5. azaz a lyuk az elektromos térben pozitív töltésű elektronszerűen mozog és vezetésre (lyukvezetés) képes.
- A germániumot öt vegyértékű **arzenatómmal kicserélve (n-típusú szennyezés)** csak négyet kötnek le a szomszédos germániumatomok, így az ötödik könnyebben leszakadhat.
- A germániumot a három vegyértékelektron tartalmazó **indiumatómmal helyettesítve (p-típusú szennyezés)** az indium környezetében „lyuk” van, melybe egy másik kötés elektronja ugorhat át.



1.2.4.3. ábra. A szennyezéses n- és p-típusú félvezetők sávmodelljei

A **fotodiódák** nagy tisztaságú, egykristályos germániumból, vagy szilíciumból készült diódák, melyekben három, illetve öt vegyértékelektronot tartalmazó elem (például Ga, illetve As) dotálásával alakítják ki a p-, illetve az n-réteget.



1.2.4.4. ábra. Fotodióda felépítése

A **p-rétegben** a csak négy vegyértékelektronú szilíciumatomokból álló réteghez képest **elektronhiány** (pozitív lyuk), míg az **n-rétegben elektrontöbblet** alakul ki.

- A két réteg határán az elektron az n-rétegből átlép a p-rétegbe és „rekombinálódik” a pozitív lyukkal, melynek következtében
- a p-réteg határán negatív, az n-réteg határán pozitív töltésfelesleg alakul ki, ami feszültség kialakulásához vezet.
- Ez a feszültség az elektronátlépésével ellentétes irányú áramot okoz, így egyensúlyi állapot alakul ki.
 - Ha a p-réteg kivezetésére pozitív, az n-réteg kivezetésére negatív feszültséget kapcsolnak és a két rétegre kapcsolt feszültségkülönbség meghaladja a dióda nyitófeszültségét, akkor a diódán áram halad át.
 - Ellenkező irányú feszültséget alkalmazva megnő a dióda ellenállása és nem halad át rajta áram (az elektronok és a lyukak eltávolodnak a két réteg határától).

Megvilágítás hatására:

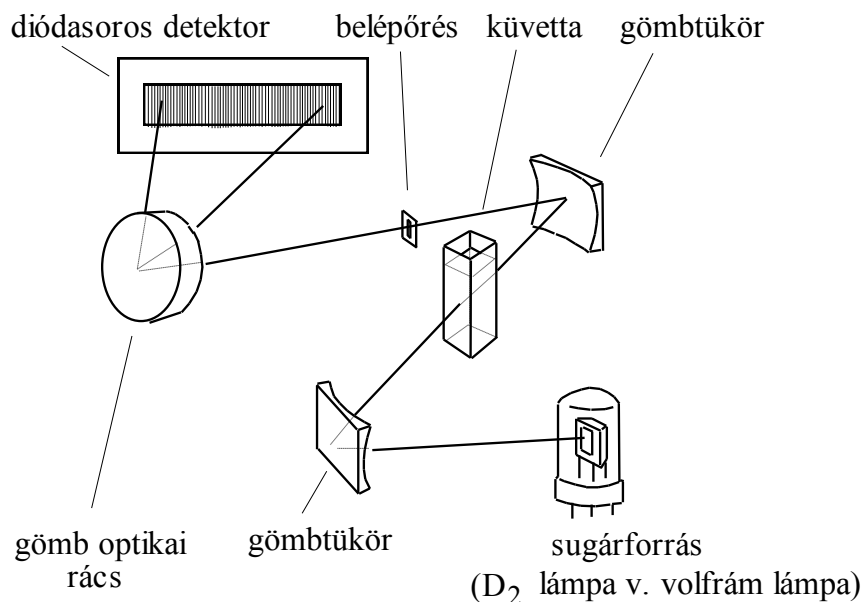
1. a félvezetőben szabad lyukak és a vezetési sávba lépő elektronok képződnek és elindulnak az ellentétes töltésű réteg felé,
2. az ellenállás lecsökken és a diódán áram folyik, melynek nagysága arányos a beeső sugárzás teljesítményével.

Megjegyzések:

- A diódákhoz kisméretű, feltöltött kondenzátorok csatlakoznak, melyek ezen áram hatására részben kisülnek. A kondenzátorokat időközönként végigpásztázzák és mérik az újratöltésükhöz szükséges áram mennyiségét.
- A fotodióda érzékenysége az alkalmazott zárófeszültség nagyságával szabályozható.
- A fotodiódák a látható és az infravörös tartományban is használhatóak.

Diódasoros detektor

- Sok apró diódát lineárisan vagy síkban összekapcsolva a diódasoros detektorhoz jutunk. Ekkor az egyes diódák egy időben képesek detektálni a monokromátorral vagy polikromátorral felbontott spektrum kis, egymástól kissé eltérő hullámhosszúságú részletét.
- Gömb optikai ráccsal és diódasoros detektorral egyszerű felépítésű, közepes felbontású, UV-VIS abszorpciós spektrométer készíthető, amely gyors spektrumfelvételt biztosít (pl. HPLC-ben UV-VIS-detektor).



1.2.4.5. ábra. Egyfényutas UV-VIS-spektrométer diódasoros detektorral

CCD-detektor

A CCD-detektor sok különálló elemből („pixel”) áll, melyek **gyűjtik és összegzik a beeső fotonok által indukált töltést**. A CCD-detektorban egy p- és egy n-szilíciumréteg kapcsolódik egymáshoz. A p-típusú szilíciumréteg másik oldalán SiO_2 szigetelőréteg van, melyen egy +10 V feszültségű elektród található. Amikor fény éri a p-réteget, elektron lép a vezetési sávba és lyuk keletkezik. A lyuk az n-réteg felé vándorol, ahol egy elektronnal rekombinálódik, míg az elektron a pozitív töltésű elektród felé halad. A SiO_2 -szigetelőréteg megakadályozza az elektród elérését, így az elektronok a szigetelőréteg túlsó oldalán, az elektróddal szemben halmozódnak fel, és így tulajdonképpen egy kis kondenzátorcellát hoznak létre. A mérési idő letelte után a pixelekben felhalmozódott töltéseket kiolvassák.

Olyan alkalmazásoknál használhatóak, melyeknél igen kevés fény mérhető, például a Raman-spektroszkópiában, vagy nagy felbontású „echelle” rácsos polikromátorokat tartalmazó spektrométerekben, illetve digitális fényképezőgépekben. A CCD-detektorok saját zaja a detektor hűtésével csökkenthető, miáltal a mérési idő több óra is lehet, ami lehetővé teszi például csillagászati alkalmazásukat is. A detektortípus hátránya, hogy egy pixel csak meghatározott mennyiségű töltést képes felvenni, az ezen felüli töltés a szomszédos pixelbe kerül.

CID-detektor

A CCD-detektorokon kívül CID-detektorok („charge injection device”) is alkalmazhatóak. A CID-detektor a CCD-detektornál kevesebb elemből áll, de az egyes pixelek külön szabályozhatóak és kiolvashatóak töltésük elvesztése nélkül (nondestructive reading), vagy töltésük elvesztésével (destructive reading). Ez azáltal lehetséges, hogy egy pixelhez két kondenzátorcella tartozik, melyek között az összegyűjtött töltés különféle módokon átvihető. A pixelek folyamatos figyelésével a túltöltés problémája elkerülhető, szükség szerint az egyes pixelekből a töltés kiolvasható és a pixel a kiindulási állapotába visszaállítható, mialatt más pixelek töltést gyűjtenek. A CCD- és CID-detektorokat együtt CTD-detektoroknak („charge transfer device”) nevezik.

1.2.5. Infravörös tartományban használható detektorok

A közeli infravörös tartományban használhatóak az UV-VIS-tartományban alkalmazott detektorok, de a nagyobb hullámhosszú (1,2 μm felett) sugárzás fotonjainak energiája már nem elegendő a fotoelektron-sokszorozók működéséhez szükséges fotoelektron kilépéséhez szükséges energia fedezésére.

Az infravörös detektorok:

- termikus,
- piroelektromos,
- fotovezetékes és fotovoltaikus detektorok lehetnek.

Termikus detektor

A termikus detektoroknál a sugárzás hatására bekövetkező hőmérséklet megváltoztatja a detektor egyes fizikai tulajdonságait. A sugárzást kisméretű, feketére festett és a környezetétől termikusan elszigetelt területre fókuszálják. A hő hatására történő fizikai változás lehet szilárd, cseppfolyós vagy gáz halmazállapotú anyag térfogatváltozása (Golay-cella), elektromos ellenállás megváltozása (termisztor, bolométer), feszültségkülönbség (termoelem, termooszlop).

A Golay-cellában az infravörös sugárzás fekete fémlemezre esik, mely felmelegszik és a hőt átadja a lemez mögötti kamrában lévő gáznak (például xenon). A gáz kitér és a kamra másik végén lévő diafragmát elmozdítja. A diafragma viszont egy kondenzátor egyik lemeze, ezért elmozdulása megváltoztatja a kondenzátor kapacitását, amely elektromos jellé alakítható. A berendezés érzékenysége növelhető, ha a diafragmára fénynyalábot vetítenek, melynek visszaverődése változik a diafragma mozgásával. A detektor válaszideje mintegy 20 ms. A termoelemek két különböző fém érintkezési pontja fekete fémoxiddal van bevonva, amely felmelegszik (melegpont) a huzalok szabad, termosztált végeihez képest (hidegpont), és a huzalok szabad végei között a meleg- és a hidegpont közötti hőmérséklet-különbséggel arányos feszültség mérhető. A válasz felerősítésére a termoelemeket sorbakapcsolva (termooszlop) az eredő feszültség egyenlő az egyes termoelemek feszültségeinek összegével. A válaszidő 30 ms. Az infravörös tartományban használatos termisztorok (más néven bolométerek) ellenállása jelentősen csökken a hőmérséklet növekedésével. A jelenség oka, hogy az n-típusú vezető esetén a hőmérséklet növekedésével egyre több elektron jut a vezetési sávba, illetve p-típusú vezető esetén az akceptornívóra, miáltal az alapsávban több „pozitív lyuk” keletkezik. Ezt a növekedést a rácsatomok nagyobb rezgési amplitúdójából eredő mozgékonyaságcsökkenés nem képes kiegyenlíteni. Általában állandó feszültséget kapcsolnak a bolométerre és mérik a megvilágított, illetve nem megvilágított bolométer ellenállásának különbségét.

Piroelektromos detektor

A piroelektromos detektorok triglicin-szulfátból (TGS) vagy deuterált triglicin-szulfátból (DTGS) készíthetőek. A piroelektromos anyagokban az elnyelt hő hatására megváltozik a kristályrács szerkezete, ami megváltoztatja a kristályrács felületén a töltéeloszlást. A dipólusmomentumok

átrendeződése miatt elektromos tér jön létre (polarizáció). A kristályt két elektróda közé helyezve olyan kondenzátor keletkezik, amelynek kapacitása a hőmérséklet függvénye. A piroelektromos detektorok a hőmérsékletváltozást jelzik, ezért a beeső sugárzást szaggatják, vagy pulzálják. A válaszidő igen kicsi (10 μ s), ami a detektort alkalmassá teszi Fourier-transzformációs berendezésekben való alkalmazásra.

Fotovezetésses detektor

A fotovezetésses detektorok félvezető detektorok (termisztorok), működésük során az elnyelt foton hatására elektronok kerülnek a vezetési sávba, így az alkalmazott félvezető detektor vezetése nő.

Fotovoltaikus detektor

A fotovoltaikus detektorokban egy p- és egy n-réteg kapcsolódik egymáshoz. Az infravörös sugárzás hatására keletkező elektronok és lyukak vándorlása az n-rétegből a p-rétegbe (elektron), illetve p-rétegből az n-rétegbe (lyuk) megváltoztatja a két réteg határán kialakuló feszültség nagyságát. A mérés során ezt a feszültségváltozást detektálják. Leggyakrabban a cseppfolyós nitrogén hőmérsékletén (-196 °C) működő MCT (Hg-Cd-Te) detektorokat alkalmazzák, mert érzékenyséjük jobb, válaszidejük kisebb (20 ns), mint a piroelektromos detektoroké. A komponensek arányának változtatásával befolyásolható, hogy a detektor a különböző hullámhosszú sugárzásokra mennyire érzékeny.

1.2.6. Spektrométerek mérési elrendezésének lehetőségei

Az alábbi egységeket eltérő mennyiségben és/vagy sorrendben alkalmazva többféle spektrométertípust lehet összeállítani:

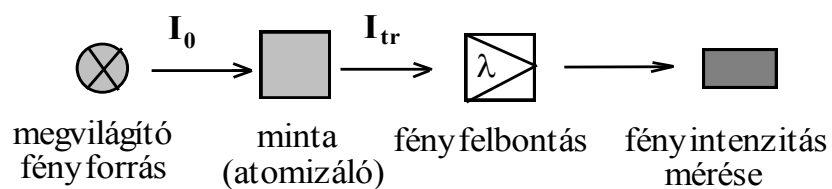
- fényforrás,
- hullámhosszt kiválasztó egység,
- mintatér,
- referenciatér,
- detektor és
- jelfeldolgozó egység.

Az egyes készülék megoldásoknál **fontos szempont**, hogy a transzmittancia, illetve abszorbancia meghatározásához az adott hullámhosszon három mérést kell végezni:

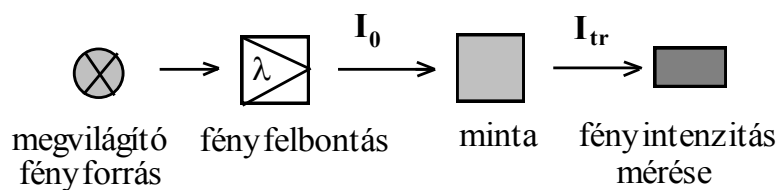
1. **lezárt fényútnál** (nulla intenzitás) meg kell határozni a **detektor sötétáram jelét**,
2. a **referencián keresztül**, amely a meghatározandó komponens kivételével a mintaoldat minden más összetevőjét tartalmazza (oldószer, vak oldat, **vak minta**), mérni kell az **I_0 intenzitáshoz tartozó detektorjelet**,
3. a **mintán keresztül mérni** kell az **I_{tr} intenzitás detektorjelét**. A mérések elvégzéséhez nyitni, illetve zárni kell a fényutat, illetve a fényútba kell helyezni a referenciát, illetve a mintát.

Fotométerek: Az egyszerűbb és olcsóbb szűrős készülékek biztosítják ugyan a kiválasztott hullámhossztartományban történő mérés lehetőségét, de a hullámhossz pásztázását, spektrum felvételét nem teszik lehetővé.

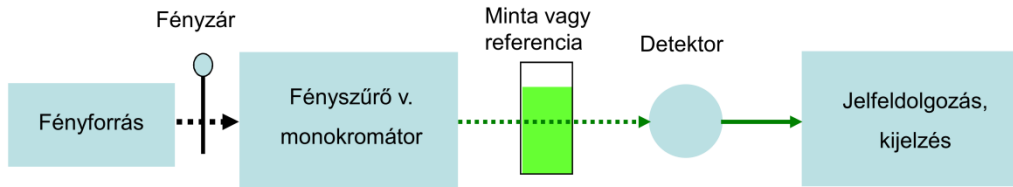
Spektrofotométerek: A hullámhosszt változtatni szakaszosan, a szűrő cseréjével lehetséges. A spektrumok felvétele csak a folyamatos hullámhosszpásztázást biztosító monokromátorok, polikromátorok és interferométerek alkalmazásával valósítható meg.



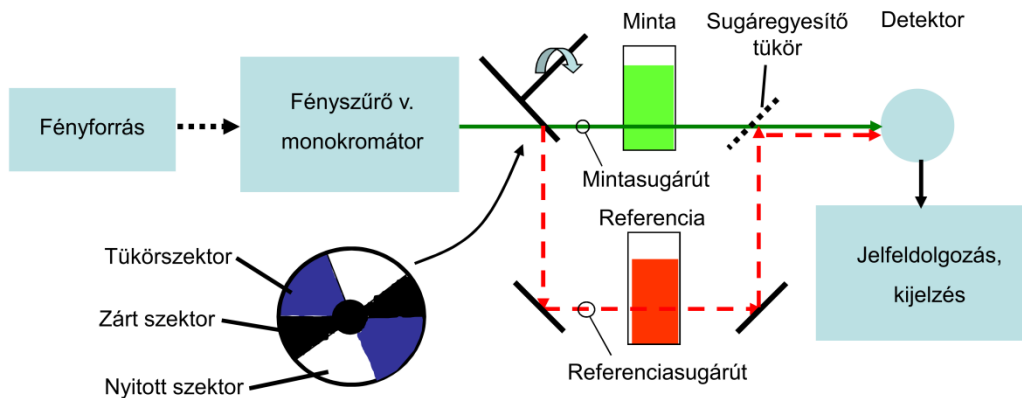
1.2.6.1. ábra. Atomabszorpciós mérés elvi vázlatja



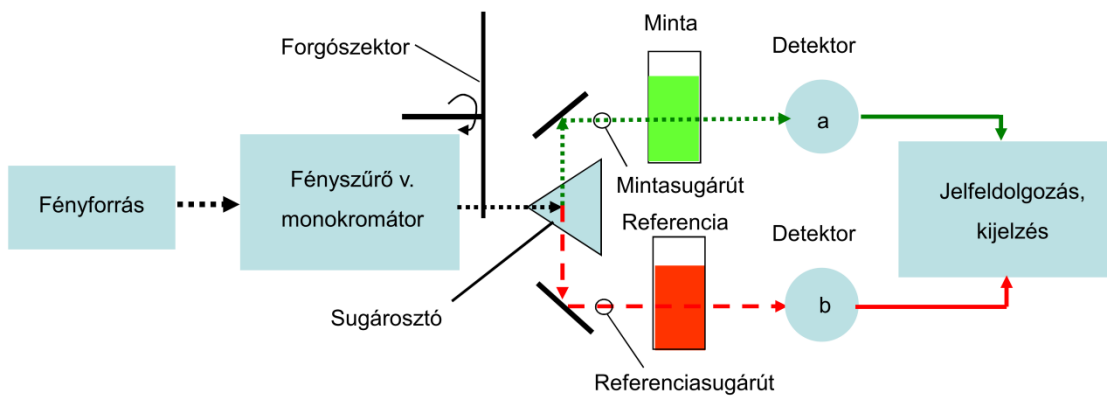
1.2.6.2. ábra. Molekulaabszorpciós mérés elvi vázlatja



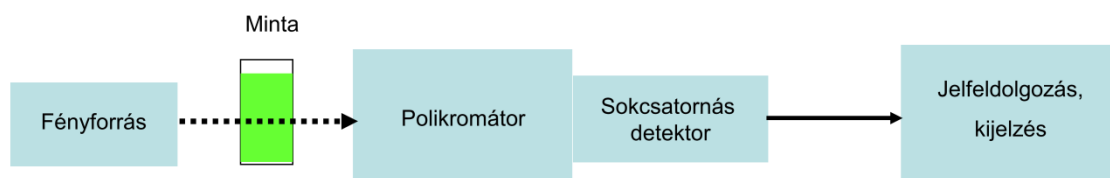
(a) Egysugaras spektrofotométer



(b) Kétsugaras, egydetektoros spektrofotométer



(c) Kétsugaras, kétdetektoros spektrofotométer



(d) Egysugaras, sokcsatornás spektrofotométer

1.2.6.3. ábra. Abszorpciós spektrofotométer alaptípusok (UV, VIS, IR) blokkdiagramjai

Az abszorpciós fotométerek és spektrofotométerek alaptípusait az 1.2.6.1. ábra, az 1.2.6.2. ábra és az 1.2.6.3. ábra szemlélteti. Ezek alapján megkülönböztetünk **egysugaras és kétsugaras készülékeket**.

Az ábrából látható, hogy az atomabszorpciós és a molekulaabszorpciós berendezésekben a minta és a fényfelbontó egység helyzete felcserélődik. Ennek oka az, hogy atomspektroszkópiában a lángatomforrásnak jelentős háttérsugárzása van, melynek detektorra jutását el kell kerülni. Ugyanakkor UV-VIS-molekulaspektroszkópiában gyakran vizsgálunk fényre érzékeny mintákat. Ezeknél a mintáknál nem lehet a roncsoló sugárzást a mintára engedni, így ebben az esetben a fényfelbontó egység a mintatér előtt található.

Egysugaras készülékek

A legegyszerűbb egysugaras készülékekben a fent említett három mérést általában manuálisan kell elvégezni. A mintára jellemző spektrum a három mérés spektrumának eredője. Azonban a mérések során változhat a fényforrás intenzitása, valamint a detektor érzékenysége, ezért egyrészt az egysugaras készülékekkel célszerű csak egyetlen hullámhosszon mérni, így inkább **ugyanazon komponens sorozatos meghatározására használhatóak**, másrészt a fényforrás és a detektor stabilitása alapvető követelmény.

Kétsugaras, egydetektoros készülékek

A kétsugaras, egydetektoros készülékek forgó tükörszektor segítségével, elkülönített minta és referencia sugárúttal, időosztásban, ciklikusan, automatikusan 50–100 ismétlés/s gyakorisággal hajtják végre a fenti három mérést, és képzik a transzmittancia- és abszorbanciaértékeket.

A kétsugaras készülékek **kompenzálják a fényforrás lassú intenzitásváltozásait és alkalmasak spektrum felvételére** is.

Kétsugaras, kétdetektoros készülékek

A kétsugaras, kétdetektoros rendszerben a minta és referencia sugárútban egyidejűleg történik a mérés. A forgószektor egyidejűleg nyitja és zárja a fényutat a sötétáram méréshez. Ez a megoldás is **alkalmas spektrumok felvételére**. Az egyidejű mérés miatt **kompenzálja a fényforrás gyors ingadozásait és a lassú változásokat is**. Hátránya viszont, hogy csak tökéletesen azonos karakterisztikájú detektorokkal működik helyesen. A korszerű félvezető alapú detektorok már biztosítják ezeket a feltételeket.

Kéthullámhosszas spektrométerek

A kéthullámhosszas spektrométerekben két különböző hullámhosszú sugárzást vetítenek ugyanarra a mintára és így egy paraméter jele (**szennyeződés, fényszórás**) **kompenzálódik**. Egy másik megoldás szerint a mintán és a vonatkoztatási ágon különböző hullámhosszúságú sugárzás halad át. A két hullámhossz úgy van kiválasztva, hogy azokon a zavaró komponens abszorbanciája azonos legyen.

Sokcsatornás detektor

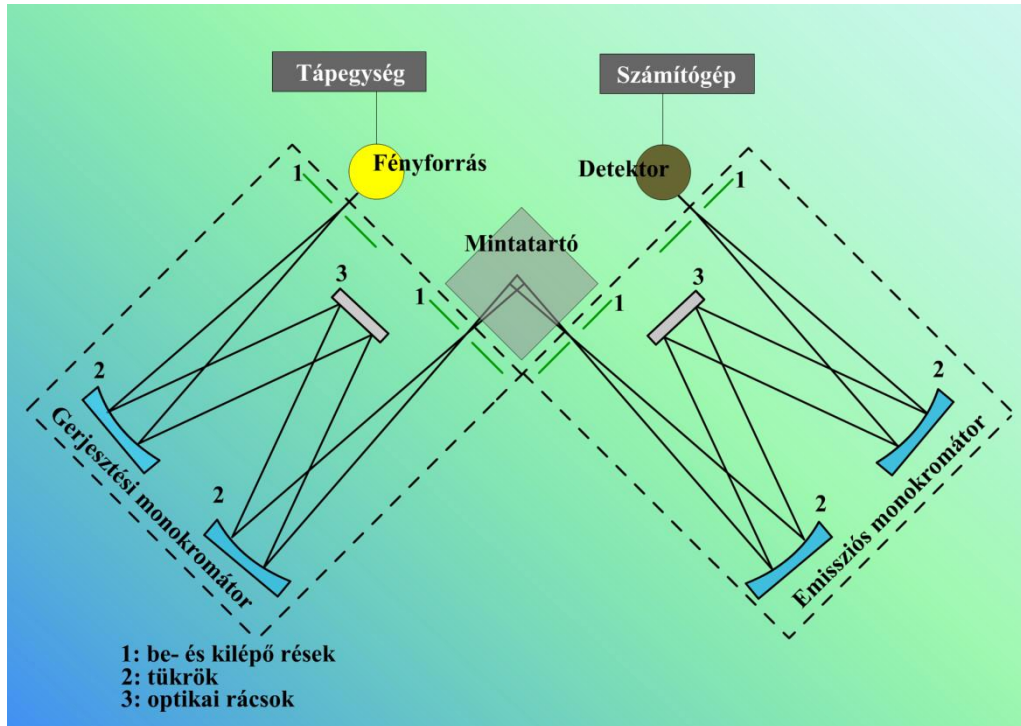
A sokcsatornás detektorral (például diódasoros detektor) felszerelt egy- és kétsugaras, polikromátoros készülékek **egyidejűleg mérik a kiválasztott spektrum-tartomány intenzitáseloszlását** és lehetőséget teremtenek a **gyors spektrumfelvételre**, gyorsan változó rendszerek elemzésére. Készítenek ezen az elven egyszerű spektrofotométerekeket is.

Spektrofluorométerek

A fluoreszcencia mérésére alkalmas készülékeknel két fényfelbontó egységet alkalmaznak:

- egyet a gerjesztő,
- egyet az emittált fény megfelelő hullámhosszának kiválasztására.

A gerjesztő és emittáló hullámhosszt szűrőkkel kiválasztó készülékek a fluorométerek, a monokromátor fényfelbontó egységet tartalmazó készülékek a **spektrofluorométerek**.



1.2.6.4. ábra. Spektrofluorométer felépítése

A gerjesztő és a detektorba leképezendő emittált fénysugár iránya által bezárt szög 90° , mert ekkor a legkisebb a szórt gerjesztő fény és így legjobb a jel/zaj viszony.

- Előnye: a gerjesztő fény ebben az elrendezésben csak akkor juthat a detektorba, ha előtte a mintában lévő kolloid méretű részecskéken szóródik.
- A felépítés hátránya, hogy a fény hosszú utat tesz meg a mintában. Nagy abszorbeáló képességű (főleg nagy koncentrációjú oldatok) mérésekor előfordulhat, hogy a gerjesztő fénysugár nagy része elnyelődik, mire a küvetta közepére, az emissziós monokromátor „látóterébe” ér, így kisebb jel mérhető a detektorban. Ez oda vezethet, hogy az I_f – koncentráció görbének maximuma van, azaz az oldat mérési térfogatába érkező a gerjesztő fénysugárzás intenzitásának csökkenését a nagyobb koncentrációból eredő nagyobb fluoreszcens fénysugárzás már nem képes meghaladni. Ebben az esetben frontális elrendezést alkalmaznak, melyben az emittált fény a minta vékony, külső rétegeiből származik. Frontális elrendezést alkalmaznak szilárd minták mérésekor is.

Kemilumineszcenciás spektrométerek

A kemilumineszcenciás méréseknel a mérőcella egy gömb belsejébe nyúlik be, a gömb tükröző belső felülete irányítja a minta által kibocsátott fényt a detektorba.

FT-IR-spektrométerek

A ma használatos FT-IR-spektrométerek többnyire egysugarasak, ezért a háttér és a háttér + minta spektrumot időben egymás követően kell felvenni. A transzmittancia $(T = \frac{I_{tr}}{I_o} \cdot 100\%)$ spektrum úgy kapható meg, hogy az egysugaras mintaspektrum minden egyes pontjának intenzitását (I_{tr}) a számítógép elosztja a háttérspektrum megfelelő hullámszámú pontjának intenzitásával (I_o). A Fourier-transzformációs technika leglényegesebb eleme, hogy az interferométer egyszerre gyűjti össze az összes frekvenciához tartozó IR-intenzitás értékét. Ez ugrásszerű javulást eredményez a jel/zaj viszonyban a diszperziós technikához képest, ahol a spektrumnak egyszerre csak kis részlete esik a detektorra, tehát az IR-intenzitásnak csak töredéke szuperponálódik a detektor zajára. További javulás érhető el az interferogram többszöri felvételével (egy mérés rendkívül gyors, általában néhány másodperc). Ekkor a zaj a felvételek számával (N) négyzetgyökösen nő, míg a jel a felvételek számával arányosan. Így a jel/zaj viszonyban \sqrt{N} -szeres javulást érhető el.

Raman-spektroszkópiában

A Raman-spektroszkópiában egyaránt alkalmaznak diszperziós és Fourier-transzformációs készülékeket. Ugyanakkor a Raman-szórás intenzitása a hullámhossz negyedik hatványával fordítottan arányos, emiatt a közeli infravörös tartományban működő lézert alkalmazva fényforrásként a detektált jel gyengébb és ekkor Fourier-transzformációs készüléket kell alkalmazni. Argonion-lézer ($\lambda = 515 \text{ nm}$) helyett Nd:YAG ($\lambda = 1064 \text{ nm}$) lézert alkalmazva a Raman-szórás intenzitása a tizenhatod részére csökken. Mivel a Rayleigh-vonal intenzitása nagyságrendekkel nagyobb a Raman-szórások sávjainál, ezért szűrővel el kell távolítani.

2. ATOMSPEKTROSKÓPIA

2.1. BEVEZETŐ

2.1.1. Atomspektroszkópiai módszerek szerepe az analitikában

A műszeres analitikai módszerekkel végzett elemzések egyik fontos területe a mintákban található elemek kimutatása és mennyiségi meghatározása. A különböző készülékek kb. 70–80 elem meghatározását teszik lehetővé (2.1.1.1. táblázat), de a jól mérhető elemek köre technikai okokból valamivel kisebb. Például a halogén elemek általában nem jól mérhetők, a szén meghatározása csak vasötvetek közvetlen elemzése esetén alkalmazható, stb.

1a	2a	3b	4b	5b	6b	7b	8	8	8	1b	2b	3a	4a	5a	6a	7a	8a
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	Lant.	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Akt.															

Lantanidák	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Aktinidák	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lw

2.1.1.1. táblázat. Az atomspektroszkópiás elemanalitikai módszerekkel meghatározható elemek (vastagon szedve)

A korszerű elemanalitikai laboratóriumokban (1.) **atomspektroszkópiás elven** és (2.) **tömegspektrometriás elven** működő készülékeket alkalmazunk. Az atomspektroszkópiai módszerek további három csoportját alkotják: (a) az atomemissziós, (b) az atomabszorpciós és (c) az atomfluoreszcenciás módszerek.

1. Atomspektroszkópiai módszerek
 - a. Atomemissziós módszerek
 - i. Lángemissziós módszer (F-OES)
 - ii. Szikraspektrometriás módszer (Spark-OES)
 - iii. Induktív csatolású plazma optikai emissziós módszer (ICP-OES)
 - b. Atomabszorpciós módszerek, AAS
 - i. Láng-atomabszorpciós módszer, (F-AAS)
 - ii. Grafitekemence atomabszorpciós módszer, (GF-AAS)
 - iii. Hígany atomabszorpciós módszer (CV-Hg-AAS)
 - iv. Hidrid atomabszorpciós módszer (Hydride-AAS)
 - c. Atomfluoreszcenciás módszerek
 - i. Hígany atomfluoreszcenciás módszer (CV-Hg-AF)
 - ii. Hidrid atomfluoreszcenciás módszer (Hydride-AF)
2. Tömegspektroszkópiás módszerek, MS
 - a. Induktív csatolású plazma tömegspektrometriás módszer (ICP-MS)

Megjegyzés: az ICP-MS-módszer elvileg a tömegspektrometriás módszerek körébe tartozik, de annak egy nagyon speciális változata. Az ICP-MS-módszer alkalmazási szempontból az atomspektroszkópai módszerekhez kapcsolódik, ezért célszerű azokkal együtt tárgyalni.

Az egyes itt tárgyalt módszerek ugyan hasonló feladatok ellátására képesek, de jelentősen különböznek koncentrációtartományban, kimutatási határookban, az időegység alatt meghatározható minta és elemszámban, a beruházási és működtetési költségekben és szakember igényben is.

Az itt tárgyalt elemanalitikai módszerek többsége elsődlegesen ún. **oldatos módszer**, ami azt jelenti, hogy a készülékbe vizes oldatban, savas oldatban, ritkábban szerves oldószeres oldatban juttatjuk be a mintát. Az esetek többségében a különböző jellegű mintákat valamilyen mintaelőkészítési művelettel:

1. oldás,
2. savas oldás,
3. savas roncsolás,
4. hamvasztás és savas oldás,
5. feltárást, ömlesztést követő oldás, stb. visszük az oldatba.

Az oldatos mintabevitel nagyon sokféle minta elemzésére teszi alkalmassá az atomspektroszkópai módszereket. Az oldatos módszerek további nagy előnye, hogy a kalibrálást monoelemes, illetve multielemes kalibráló oldatokkal végezhetjük. A kalibráló oldatok készítésekor adalékok alkalmazásával közelítjük a kalibráló oldatok összetételét a mintaoldat összetételéhez (mátrix illesztés), de használhatjuk az addíciós kalibrálást és a belső standard módszert is.

Szűkebb körben alkalmazhatjuk a direkt, szilárdmintás atomspektroszkópai technikákat, készülékeket, illetve mintabeviteli módszereket (Pl. szikraspektrometria, lézerablációs mintabevitel, stb.).

2.1.2. Az atomspektroszkópai módszerek teljesítőképességének rövid jellemzése

Az atomabszorpciós módszerek kb. 60 féle elem meghatározására alkalmasak, oldatmintákban, monoelemes üzemmódban, azaz egyidejűleg egy elemet mérnek, 1–2 perc mérési idővel. Egy másik elem meghatározásához a készüléket át kell állítani.

A láng-atomabszorpciós módszert főalkotók és mellékalkotók meghatározására használjuk. A grafitkemence atomabszorpciós módszert nyomelemek mérésére alkalmazzuk. A higany-AAS-módszerrel higanyt mérünk nyomelem szinten. A hidrid-AAS-módszer elsősorban arzén és szelén nyomelemzésére alkalmas.

Az induktív csatolású optikai emissziós módszer kb. 60–70 féle elem meghatározását teszi lehetővé oldatmintákban, szimultán multielemes üzemmódban, azaz egyidejűleg sok elemet mérve, 1–2 perces mérési idővel. Elsősorban a főalkotók és mellékalkotók meghatározására alkalmas, de bizonyos feladatokban a nyomelemzés is elvégezhető. A szimultán multielemes üzemmód nagy elemzési kapacitást biztosít (sok minta, sok elem).

A szikraspektrometriás módszer fém minták közvetlen szilárd mintás elemzését teszi lehetővé szimultán multielemes üzemmódban, azaz egyidejűleg sok elemet mérve, 1–2 perces mérési idővel. A módszerrel 60–70 féle elemet tudunk vizsgálni. A főalkotók, mellékalkotók és nyomelemek egyidejűleg mérhetők. A kohászati üzemekben és fémraktárakban alkalmazzák.

Induktív csatolású plazma tömegspektrometriás módszer: kb. 60–70 féle elem meghatározására alkalmas, oldatmintákban, gyorspáztázó vagy szimultán multielemes üzemmódban. Sok elem, rövid idejű meghatározását teszi lehetővé 2–3 perces mérési idővel. Elsősorban a mellékalkotók és nyomelemek meghatározására alkalmas módszer. A módszer nagy elemzési kapacitást biztosít.

2.1.3. Az atomspektroszkópai módszerek kimutatási határai

Az analitikai módszerek alsó méréshatárának jellemzésére használjuk a kimutatási határ koncentrációt. Ez az adat nagyon fontos a készülékek jellemzésére, összehasonlítására, illetve a készülék pillanatnyi állapotának megítélésére. A kimutatási határ adatokat felhasználjuk az analitikai feladat tervezésénél.

Az atomspektroszkópiában a kimutatási határ koncentráció statisztikai definícióját használjuk, ami a vakminta mérése során kapott jel véletlenszerű ingadozásának, a zajnak az értékelésén alapszik. A kimutatási határ számítása az alábbi összefüggéssel történik:

$$c_L = \frac{3s}{S},$$

ahol c_L a kimutatási határ koncentráció,

s a vakérték jelének szórása (a zaj),

S a kalibrációs függvény meredeksége.

A kimutatási határ értelmezése és alkalmazása

A kimutatási határ koncentrációnál (c_L) végezve méréseket 33% relatív szórást (**RSD**) várhatunk. Ha a koncentrációt 2x, 3x, 6x nagyobbra választjuk ($2c_L$, $3c_L$, $6c_L$) a **relatív szórás** 1/2, 1/3, 1/6 részére csökken, azaz $33/2 = 16,5\%$, $33/3 = 11\%$, illetve $33/6 = 5,5\%$ relatív szórás várható. Tehát a kimutatási határ ismeretében becsülhetjük egy adott **RSD** eléréséhez szükséges elemkoncentrációt. A kimutatási határból származtatott, adott **RSD**-hez tartozó koncentráció a meghatározási határ (c_Q). A kimutatási határ adatok származhatnak az irodalomból, készülékspecifikációból, illetve saját mérésekből. A kimutatási határokat és meghatározási határokat elsődlegesen a készülékkel közvetlenül mért mintaoldatra vonatkoztatjuk, így azok a készülék jellemzésére használhatók.

Abban az esetben, ha a vizsgálati minta és a belőle készített mintaoldat elemkoncentrációja nem azonos, a kimutatási határt, illetve meghatározási határt át kell számítani, így kapjuk a mintára vonatkoztatott kimutatási határt, illetve a mintára vonatkoztatott meghatározási határt. Ezek az adatok az adott analitikai módszer jellemzésére szolgálnak. A számítás alapja a mintaelőkészítés jellemző koncentráció viszony $c_{minta}/c_{mintaoldat}$:

$$\frac{c_{minta}}{c_{mintaoldat}} = \frac{V}{m},$$

ahol V a mintaoldat végtérfogata, (ml)

m a bemért minta tömege (g), vagy a bemért minta térfogata (ml).

Az esetek többségében valamilyen mintaelőkészítési műveletet követően történik az elemzés. A műszerrel ténylegesen elemzett mintaoldat-készítés során a minta koncentrációja változik egy V/m faktorról.

A mintára vonatkoztatott kimutatási határ számítása:

$$c_{L,minta} = \frac{c_{L,készülék} \cdot V}{m},$$

ahol $c_{L,minta}$ a mintára vonatkoztatott kimutatási határ koncentráció,

$c_{L,készülék}$ a készülékre vonatkoztatott kimutatási határ koncentráció.

A fontosabb elemanalitikai módszerek kimutatási határainak összehasonlítása

Az 2.1.3.1. táblázatban és 2.1.3.2. táblázatban tájékoztatásul 70 elemre megadjuk a L-AAS, a GF-AAS az ICP-OES (radiális leképezéssel), ICP-OES (axiális leképezéssel) és az ICP-MS-módszer kimutatási határait $\mu\text{g/l}$ (ppb) koncentrációban. Ezek az adatok ideális körülményekre, mátrixmentes minta-

oldatokra és átlagos készülékconfigurációra vonatkoznak. Reális körülmények között a kimutatási határ nagyon jelentősen, nagyságrendekkel is romolhat. Az adatok segítségével összehasonlíthatjuk az egyes módszereket, illetve az egyes elemek viselkedését az adott, illetve különböző módszerek alkalmazása esetén.

Az adatokat felhasználhatjuk egy-egy elemzési feladat tervezése során is.

Elem	Láng-AAS	GF-AAS	ICP-OES radiális	ICP-OES axiális	ICP-MS
	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)
Ag	2	0,05	2	0,5	0,00001–0,0001
Al	30	0,25	6	1,5	0,0001–0,01
As	300	0,33	12	2	0,001–0,01
Au	8	0,15	6	0,6	0,00001–0,0001
B	500	43	0,5	0,2	0,01–0,1
Ba	20	0,4	0,2	0,04	0,00001–0,0001
Be	1	0,025	0,2	0,06	0,0001–0,001
Bi	50	0,3	18	2	0,00001–0,0001
Ca	1	0,04	0,03	0,03	0,001–0,10
Cd	1,5	0,02	1	0,1	0,00001–0,0001
Ce	100000		8		0,00001–0,0001
Co	5	0,5	2	0,5	0,0001–0,001
Cr	6	0,025	2	0,4	0,0001–0,001
Cs	4	0,3	3200		0,0001–0,001
Cu	3	0,07	2	0,3	0,0001–0,001
Dy	40	1,8	0,3		0,00001–0,0001
Er	35	3,8	0,7		0,00001–0,0001
Eu	1,5	0,8	0,3		0,00001–0,0001
Fe	6	0,06	1	0,3	0,0001–0,100
Ga	65	23	7		0,0001–0,01
Gd	2000		3		0,00001–0,0001
Ge	100	0,5	10		0,001–0,01
Hf	2000		4		0,00001–0,0001
Hg	145	18	9	1,2	0,001–0,01
Ho	60		0,5		0,00001–0,0001
In	40	0,3	18		0,00001–0,0001
Ir	500	4	4		0,00001–0,0001
K	2	0,02	6,5	0,5	0,001–0,1
La	2000		0,02		0,00001–0,0001
Li	2	0,1	1		0,0001–0,001
Lu	300		0,05		0,00001–0,0001
Mg	0,3	0,01	0,1	0,03	0,0001–0,001
Mn	2	0,03	0,3	0,05	0,0001–0,001
Mo	20	0,14	4	0,5	0,00001–0,0001

2.1.3.1. táblázat. A különböző elemanalitikai módszerek jellemző kimutatási határ koncentrációi

Elem	Láng-AAS	GF-AAS	ICP-OES radiális	ICP-OES axiális	ICP-MS
	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)	µg/l, (ppb)
Na	0,3	0,05	1	0,2	0,001–0,1
Nb	2000		4		0,00001–0,0001
Nd	850		2		0,00001–0,0001
Ni	10	0,24	6	0,4	0,0001–0,01
Os	100		5		0,00001–0,0001
P	4000	100	18	13	> 0,001
Pb	10	0,04	14	1	0,00001–0,0001
Pd	10	0,5	2		0,00001–0,0001
Pr	5000		0,8		0,00001–0,0001
Pt	75	4,5	20		0,00001–0,0001
Rb	5	0,06	35		0,00001–0,0001
Re	800		11		0,00001–0,0001
Rh	3	0,4	5		0,00001–0,0001
Ru	100	0,75	4		0,00001–0,0001
S			20	28	> 0,01
Sb	40	0,35	18	2	0,00001–0,0001
Sc	30		0,2	0,05	0,0001 - 0,1
Se	500	0,65	20	5	0,001 - 0,1
Si	200	0,8	5	2	> 0,001
Sm	750		7		0,00001–0,0001
Sn	95	0,6	0,1	0,01	0,00001–0,0001
Sr	2	0,1	0,1	0,01	0,00001–0,0001
Ta	1500		9		0,00001–0,0001
Tb	700	0,2	5		0,00001–0,0001
Te	30	0,5	27		0,001–0,1
Th			17		0,00001–0,0001
Ti	70	1,6	0,6	0,09	0,0001–0,001
Tl	20	0,75	16	3	0,00001–0,0001
Tm	20		1,5		0,00001–0,0001
U	40000		3,5	0,4	0,00001–0,0001
V	50	0,7	2	0,5	0,00001–0,0001
W	750		17		0,00001–0,0001
Y	350		0,2		0,00001–0,0001
Yb	4	0,15	0,3		0,00001–0,0001
Zn	1,0	0,0075	1	0,06	0,0001–0,01
Zr	1500		0,8		0,00001–0,0001

2.1.3.2. táblázat. A különböző elemanalitikai módszerek jellemző kimutatási határ koncentrációi

2.1.4. Az atomspektroszkópiai módszerek elvi alapjai

Az atomspektroszkópiai módszercsoportra jellemző, hogy az analitikai információt a szabadatomok (atomos gáz) és szabadionok (ionizált atomos gáz) elektrongerjesztésétől származó, kis szélességű vonalakból (5–20 pm) álló atomspektrum hordozza. Szobahőmérsékleten csak a nemesgázokban és a higanygőzben találunk szabadatomokat, egyéb esetekben a mintát alkotó elemeket szabadatomos (M), illetve szabadionos (M^+ , M^{++}) állapotba kell hozni. Az M-jelölés egy kiválasztott elem, illetve az elem egy izotópjá ICP-MS-módszer esetén. Az ideális szabadatomos, szabadionos állapot kis sűrűségű gáz halmazállapotot jelent. A spektrumvonalak hullámhossza és intenzitása megbízhatóan használható az elemek azonosításához és mennyiségi meghatározásához.

A szabadatomos állapotot létrehozhatjuk (2.1.4.1. ábra) termikus úton, nagy hőmérsékletű terekben (láng, grafitkemence, indukció csatolású plazma, ívkisülés, szikrakisülés), fizikai és kémiai átalakulások láncolatán keresztül, de ionbombázással is keletkezhet szabadatom vákuum kisülésekben (vájtkatódú lámpa, sík katódos glimmlámpa). Nagy energiájú részecskék hatására – a körülményektől

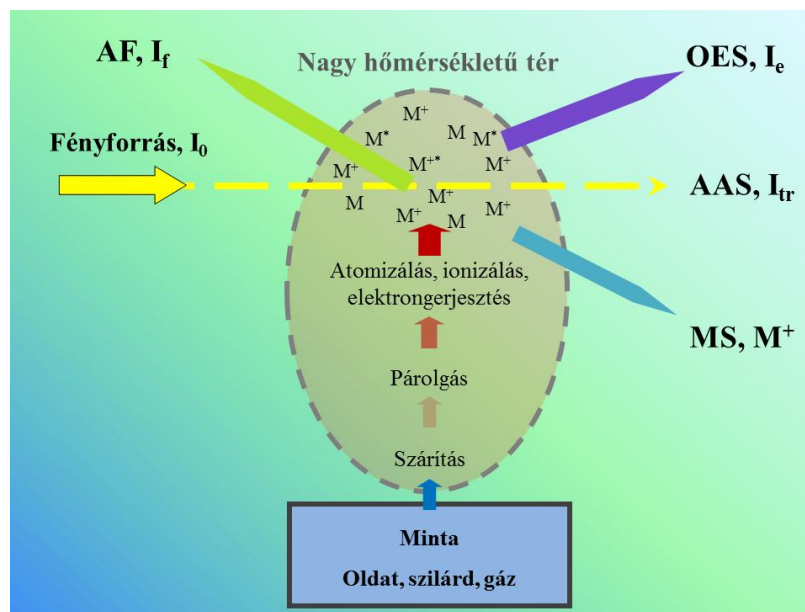
függő mértékben – lejártszódik a szabadatomok termikus, illetve elektronütközéses **ionizációja** és a szabadatomok, szabadionok **elektrongerjesztése** is.

Az analitikai információ származhat: (i) a termikusan vagy elektronütközéssel gerjesztett szabadatomok és szabadionok spontán fotonemissziójából, **atomemissziós módszer**; (ii) a szabadatomok foton abszorpciójából, **atomabszorpciós módszer**, (iii) a szabadatomok fotonokkal történő gerjesztését követő fluoreszcenciából, **atomfluoreszcenciás módszer**, illetve (iv) a forrásban keletkező ionok tömegétől, **tömegspektrometriás módszerek**.

Az elsősorban szabadatomokat előállító eszközöket **atomforrásoknak** nevezzük, ha az atomforrás maga végzi az elektrongerjesztést is **elemző sugárforrásnak** vagy egyszerűen **sugárforrásnak** hívjuk, ha a forrásban keletkezett ionokat vizsgáljuk, **ionforrásról** beszélünk.

Az analitikai információ származhat:

- a termikusan vagy elektronütközéssel gerjesztett szabad atomok és szabad ionok spontán fotonemissziójából, **atomemissziós módszer**;
- a szabad atomok foton abszorpciójából, **atomabszorpciós módszer**,
- a szabad atomok fotonokkal történő gerjesztését követő fluoreszcenciából, **atomfluoreszcenciás módszer**, illetve
- a forrásban keletkező ionok tömegétől, **tömegspektrometriás módszerek**.



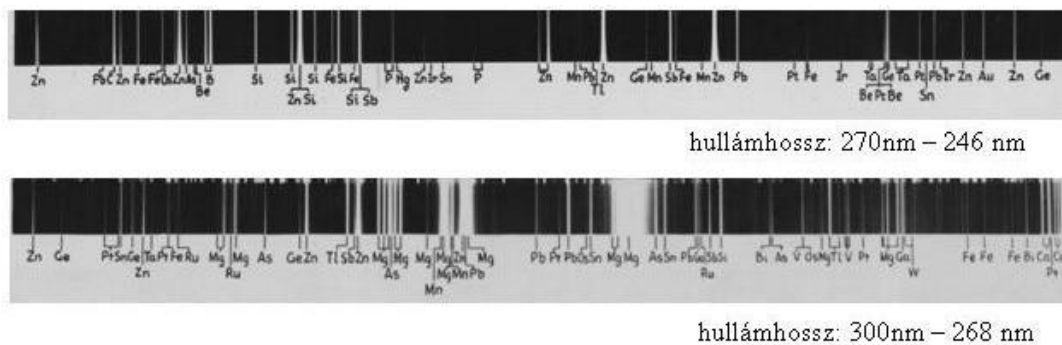
2.1.4.1. ábra. Szabadatomok, szabadionok előállítása és meghatározása atomemissziós, atomabszorpciós, atomfluoreszcenciás és tömegspektrometriás elven

Az atomok szerkezete és a vonalas atomspektrumok kapcsolata

A különböző sugárzó objektumok fényének spektroszkópai vizsgálata a 18. században kezdődött a Nap sugárzásának tanulmányozásával. Fraunhofer (1815) 576 abszorpciós vonalat ismert fel a Nap spektrumában, köztük a nátrium sárga vonalait, melyet **D1** és **D2** jelöléssel látott el. Később a szilárd anyagok, oldatok vizsgálatára a lángspektrumokat, gázok, gőzök (H₂, He, Hg stb.) vizsgálatára kisülési csövekben előállított sugárzást használtak. Bunsen és Kirchhoff (1859) megfogalmazta az atomos gázok, gőzök fotonemissziójának és abszorpciójának törvényszerűségeit és lángspektrumok segítségével új elemeket (Cs, Rb) fedezett fel. Az atomspektrumok diszkrét vonalas jellege és jellegzetes struktúrái (vonalszériák) hívták fel a figyelmet az atomok kölcsönhatásaiban mutatkozó

kvantáltságra és vezettek a diszkrét elektronpályákat tartalmazó atommodellek kidolgozására, majd a ma is elfogadott kvantummechanikai modellhez is. Az atomspektrumokban rejlő analitikai információ megértéséhez és felhasználásához hasznos a spektrumok szerkezetét tárgyaló elméleti háttér alapszintű ismerete.

A vonalas spektrumok jellegének szemléltetésére egy sok elemet tartalmazó porkeverék egyenáramú-ív sugárforrással a 230–800 nm tartományban felvett spektrumának két részletét mutatja be a 2.1.4.2. ábra. A felvétel kvarcprizmás spektrográffal készült fotolemezre. A spektrumon beazonosították és bejelölték a spektrumvonalakhoz tartozó elemeket. A spektrumok ilyen formában jelennek meg a fényfelbontást követően a készülékekben. A spektrumvonal hullámhossza alapján azonosítjuk az elemet, míg a spektrumvonal intenzitása ad lehetőséget az elemkoncentráció meghatározására.



2.1.4.2. ábra. Sok elemet tartalmazó minta emissziós spektrumának részletei a 270 nm–246 nm és a 300 nm–268 nm hullámhossztartományban

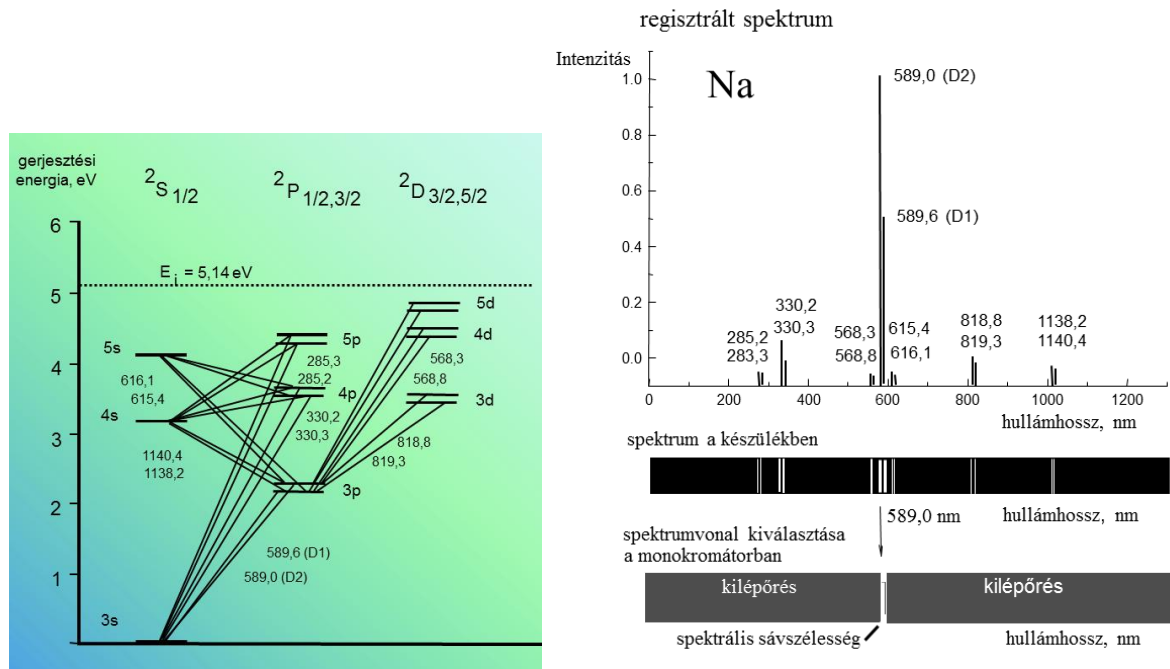
Az optikai spektroszkópia (UV, VIS, NIR) hullámhossztartományban az atomspektrumok a külső vegyértékelektronok gerjesztésére és a spontán rekombinációs folyamatokra vezethetők vissza. Mivel a szabadatomok kvantált energiaszintjei viszonylag jól elkülönülnek, az atomspektrumok vonalas jellegűek. Az atomspektrumok sok esetben viszonylag egyszerűek. A kísérletileg észlelt atomvonalak véges szélességűek, ami a gerjesztett állapot véges élettartamára, az atomok mozgásából adódó Doppler-effektusra és az ütközésekre vezethetők vissza. Az analitikus számára a leglényegesebb, hogy a spektrumvonalak hullámhossza az adott atom elektronpálya-energia értékeire vezethető vissza, tehát azokkal azonos megbízhatóságú. A spektrumvonalak hullámhossza 6–8 számjegy pontossággal adható meg (pl. Na 589,59236 nm).

Az atomspektrumok kialakulását, szerkezetét a ^{11}Na példáján szemléltetjük (2.1.4.3. ábra). A nátriumatomban a 11 db elektronból 10 db elektron a betöltött pályákon található, az 1db vegyérték elektron a $3s$ pályán helyezkedik el. Az elektrongerjesztéskor a vegyértékelektron kerül át egy kvantált, magasabb energiájú pályára. A gerjesztés szempontjából a vegyértékelektron energiáját tekintjük nulla szintnek és ettől számítjuk a gerjesztési energiákat. A gerjesztési energia növekedésével eljutunk az adott atomra jellemző E_i energia szinthez, az ionizációs energiához, amikor az elektron leszakad az atomról, az atom ionizálódik. Ebben az egyensúlyi ionizációs folyamatban M^+ pozitív ion és egy szabad elektron, e^- keletkezik.

Elektrongerjesztés és fényemisszió akkor jöhet létre, ha a kölcsönhatásban átadott energia kisebb, mint az ionizációs energia. Ilyenkor az elektron alacsonyabb E_p energia szintről a magasabb E_q energiaszintű pályára kerül és ott rövid időre, átlagosan 10^{-8} s időtartamra stabilizálódik, majd spontán visszakerül az alacsonyabb energia szintre. Amikor a spontán E_q-E_p átmenet lejátszódik a $\Delta E = h\nu$ energiakülönbségnek megfelelő ν frekvenciájú, λ hullámhosszú fotonemisszió történik véletlenszerű irányban. A lehetséges E_p-E_q és E_q-E_p átmenetek és a hozzájuk rendelhető hullámhosszak adják egy adott atom vagy ion spektrumvonalait. Az atomspektrumok szerkezetének szemléltetésére az ún. termvázlatot használják a spektroszkópiában. A termvázlaton x-irányban, csoportokba rendezve (S, P, D, F, G, H, I) vízszintes vonalak jelenítik meg az elektronpályák gerjesztési energia szintjeit (eV). A

lehetséges átmeneteket a pályák közé húzott vonalak szemléltetik. A vonalak mellett feltüntetik az adott átmenethez rendelhető spektrumvonal hullámhosszát. A folyamatok emisszió, abszorpciós és fluoreszcencia esetére is érvényesek.

A nátrium intenzívebb vonalait tartalmazó termvázlatot, a monokromátorral regisztrált és a fényképezett spektrum kapcsolatát a 2.1.4.3. ábra mutatja be. A vonalintenzitásokban a valóságban lényegesen nagyobb különbségek vannak, az IR-vonalak intenzitása lényegesen kisebb, mint a látható vonalaké.

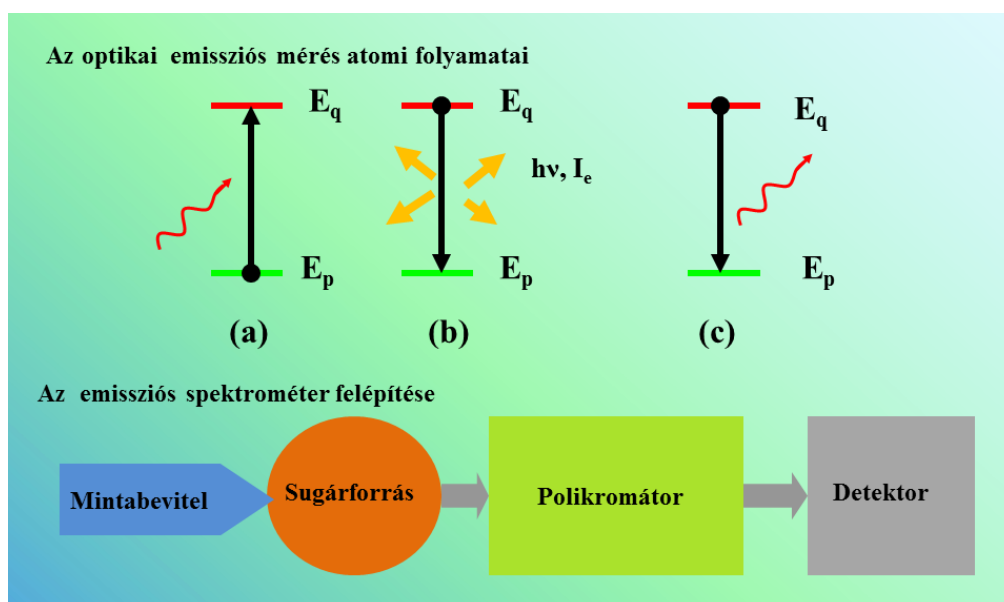


2.1.4.3. ábra. A nátrium termvázlata és emissziós spektruma

2.1.5. Az atomspektroszkópiában használt mérési elvek

Az atomemissziós (OES) spektrum keletkezését kísérő atomi folyamatok

Az atomemissziós spektrumok keletkezését kísérő atomi folyamatokat és az atomemissziós készülékek elvi felépítését a 2.1.5.1. ábra mutatja be.



2.1.5.1. ábra. Az atomemissziós elv atomi folyamatai és az atomemissziós készülék felépítése
(E_p , E_q = energiaszintek)

A folyamat leírása	A folyamat sémája
(i) Szabadatom elektrongerjesztése termikus energiával vagy nagy sebességű elektronokkal.	$M + \text{termikus energia} \Rightarrow M^*$ $M + \text{elektron energia} \Rightarrow M^*$
(ii) A gerjesztett szabadatom spontán energialeadása, vonalas emisszió, $\Delta E = h\nu \rightarrow \lambda$.	$M^* \Rightarrow M + h\nu$ (foton)
(iii) Szabadion elektrongerjesztése termikus energiával vagy nagy sebességű elektronokkal.	$M^+ + \text{termikus energia} \Rightarrow M^{+*}$ $M^+ + \text{elektron energia} \Rightarrow M^{+*}$
(iv) A gerjesztett szabadion spontán energialeadása, vonalas emisszió, $\Delta E = h\nu \rightarrow \lambda$.	$M^{+*} \Rightarrow M^+ + h\nu$ (foton)

2.1.5.1. táblázat. Az atomemissziós elvű mérés folyamatai

Jelölések: M = szabadatom, M^* = gerjesztett szabadatom, M^+ = szabadion,

M^{+*} = gerjesztett szabadion, az emittált foton hullámhossza $\lambda = k/\Delta E$.

Alkalmazások: ívspektrometria, szikraspektrometria, ICP-OES, láng-OES, GD-OES

A szabadatomok és szabadionok termikus gerjesztése során a nagy hőmérsékletű sugárforrásban található nagy kinetikus energiájú részecskékkel (atomok, ionok, gázmolekulák, elektronok) ütközve az atomok, ionok energiát vesznek fel, ez a folyamat elektrongerjesztést eredményez (2.1.5.1. ábra). Így keletkeznek a gerjesztett atomok, ionok (a). Az elektrongerjesztés során az atomok, ionok csak diszkrét, kvantált energiákat (ΔE) vehetnek fel, amit az atom elektronszerkezete, az elektronpályák energiaszintjei szabnak meg. A gerjesztett atomok, ionok egy része a felvett energiát rövid idő után (10^{-8} s), egy-egy foton spontán kibocsátásával, emisszióval adják le, véletlenszerű irányban (b), az I_e emittált fény hordozza az analitikai információt. A foton hullámhossza az elektronpályák energiakülönbségéből adódik, ezért megbízhatóan adott elemhez rendelhető. Az gerjesztett atomok energialeadása történhet ütközésekben, nem sugárzásos folyamatban is (c), amikor nem kapunk analitikai információt. Egy-egy atom vagy ion számos ΔE energiát vehet fel, amit egyrészt az elektronszerkezet, másrészt a gerjesztő részecskék energiatarományja szab meg. A gerjesztési folyamat már gerjesztett állapotú elektront is érinthet.

A 2000–2500 °C hőmérsékletű acetilén-levegő láng sugárforrásban csak a könnyen gerjeszthető alkálifémek (Li, Na, K, Cs, Rb), egy 7000–8000 °C-os sugárforrásban (pl. ICP-OES) már kb. 60–70 elem gerjeszthető. A nagy hőmérsékletű forrásokban az elem jellegétől és koncentrációjától függően

elemenként 100–10000 spektrumvonal is megjelenhet. Az egyes spektrumvonalak intenzitása az adott gerjesztési átmenet valószínűségétől, gyakoriságától függ.

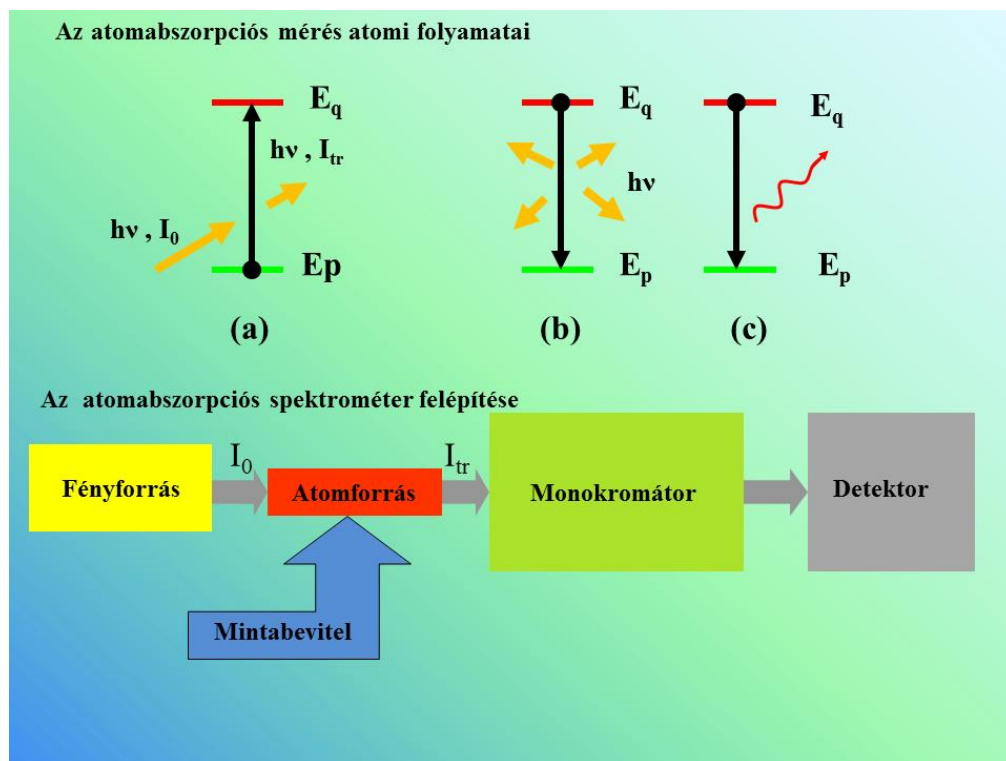
Speciális sugárforrásokban, ún. vákuum kisülésekben (vájtkatódú lámpa, GD-OES) kis hőmérsékleten is történhet nagy energiájú gerjesztés. Ezekben a nemtermikus forrásokban, elektrosztatikus térben létrehozott nagy sebességű elektronokkal történő ütközések eredményezik a gerjesztést.

Az emissziós spektrométerek fő egységei:

- a mintabeviteli egység,
- a sugárforrás,
- polikromátor és a
- detektor.

Az atomabszorpciós (AAS) spektrum keletkezését kísérő atomi folyamatok

Az atomabszorpciós spektrumok keletkezését kísérő atomi folyamatokat és az atomabszorpciós készülékek elvi felépítését a 2.1.5.2. ábra mutatja be.



2.1.5.2. ábra. Az atomabszorpciós elv atomi folyamatai és az atomabszorpciós készülék felépítése (E_p , E_q = energiaszintek)

A folyamat leírása	A folyamat sémája
(i) Szabadatom elektrongerjesztése fotonnal. A folyamatban az adott energiájú foton „elnyelődik” a megvilágító fény intenzitása változik $I_0 \Rightarrow I_{tr}$, ezt detektáljuk.	$M + h\nu$ (foton) $\Rightarrow M^*$

2.1.5.2. táblázat. Az atomabszorpciós elvű mérés folyamatai.
Alkalmazás: atomabszorpció: láng-AAS, GF-AAS, Hg-AAS, Hidrid-AAS

Az atomabszorpciós elv alkalmazásakor általában alacsonyabb hőmérsékletű (1000–2700 °C) atomforrásokot alkalmazunk a szabadatomok előállítására. Ilyen körülmények között csak a könnyen gerjeszhető elemek (alkálifémek) gerjesztődnek termikusan az elemek többsége alapállapotú. Az alapállapotú, szabadatomok elektromágneses sugázzal gerjeszthetők (2.1.5.2. ábra), így már 60–70 féle elem elemezhető a 193–853 nm hullámhossztartományban. Az atomforrásban előállított atomfelhőt egy keskeny, 2–3 mm átmérőjű fénynyalábbal világítjuk át és a sugárzás intenzitás változását, $I_0 \Rightarrow I_{tr}$ észleljük egy kiválasztott hullámhossznál, kis térszögben (a).

A gerjesztett állapot megszűnhet diffúz fényemisszióval (b), vagy ütközéssel, nem sugárzásos folyamatban (c). A diffúz fényemisszió, gyakorlatilag nem zavarja az $I_0 \Rightarrow I_{tr}$ AAS-mérést.

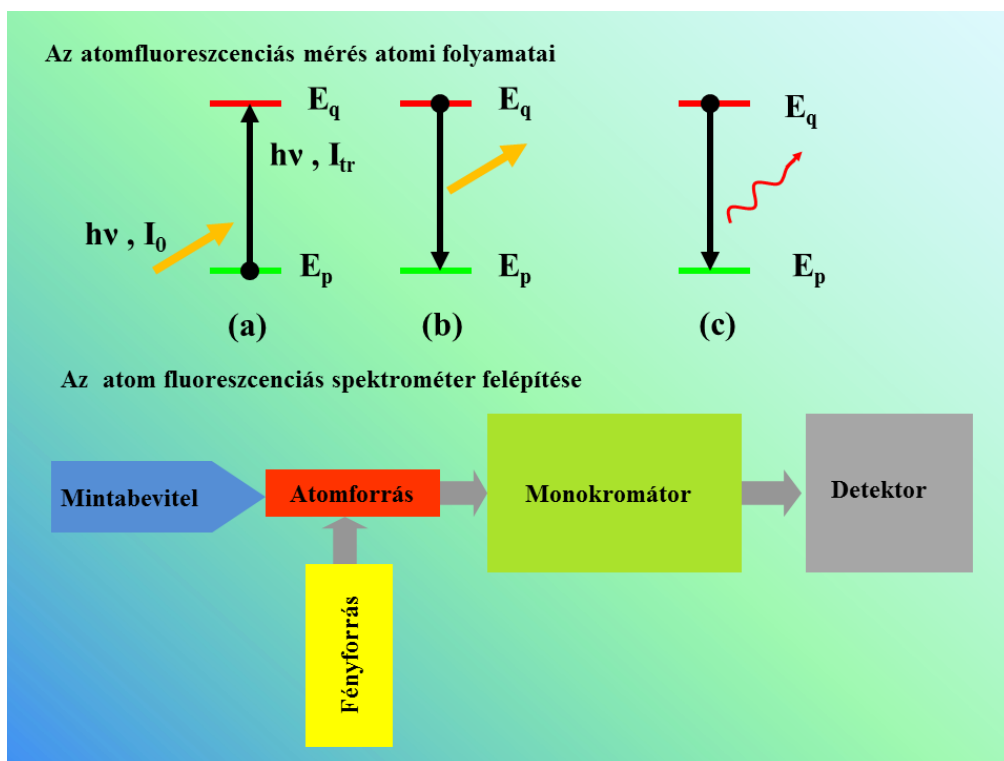
Az atomabszorpciós mérés körülményei között gyakorlatilag csak az alapállapotból induló gerjesztésekhez tartozó az ún. rezonancia vonalak jelentkeznek. Az elemek többségének csak egy vagy néhány abszorpciós vonala használható, ami spektrális szempontból szinte tökéletes szelektivitást garantál az AAS-módszernek. A szelektivitást tovább fokozza az elem-specifikus vájtkatódú lámpa fényforrások használata.

Az atomabszorpciós spektrométerek fő egységei:

- fényforrás
- atomforrás,
- mintabeviteli egység,
- monokromátor és a
- detektor.

Az atomfluoreszcenciás spektrum keletkezését kísérő atomi folyamatok

Az atomfluoreszcenciás spektrumok keletkezését kísérő atomi folyamatokat és az atomfluoreszcenciás készülékek elvi felépítését a 2.1.5.3. ábra mutatja be.



2.1.5.3. ábra. Az atomfluoreszcenciás elv atomi folyamatai és az atomfluoreszcenciás készülék felépítése (E_p , E_q = energiaszintek)

A folyamat leírása	A folyamat sémája
(i) Szabadatom elektrongerjesztése fotonnal. A folyamatban az adott energiájú foton elnyelődik.	$M + h\nu \Rightarrow M^*$
(ii) Gerjesztett atom spontán energialeadása, vonalas emisszió, $h\nu$	$M^* \Rightarrow M + h\nu$ (fluoreszcencia foton)

2.1.5.3. táblázat. Az atomfluoreszcenciás elvű mérés folyamatai.

Alkalmazás: Hg-AF, Hydride-AF (As, Se)

Az atomfluoreszcenciás elv alkalmazásakor általában alacsonyabb hőmérsékletű (1000 – 2700 °C) atomforrásokat alkalmazunk a szabadatomok előállítására (2.1.5.3. ábra). Az alapállapotú szabadatomok gerjesztése egy fényforrásból származó elektromágneses sugárzással történik (a), de itt nem a megvilágító fény intenzitásváltozását észleljük, hanem a gerjesztett atomok által emittált I_f fluoreszcenciasugárzást (b). A fluoreszcenciasugárzást csökkentik, kioltják az ütközéses energialeadási folyamatok (c).

Az atomfluoreszcenciás spektrométerek fő egységei:

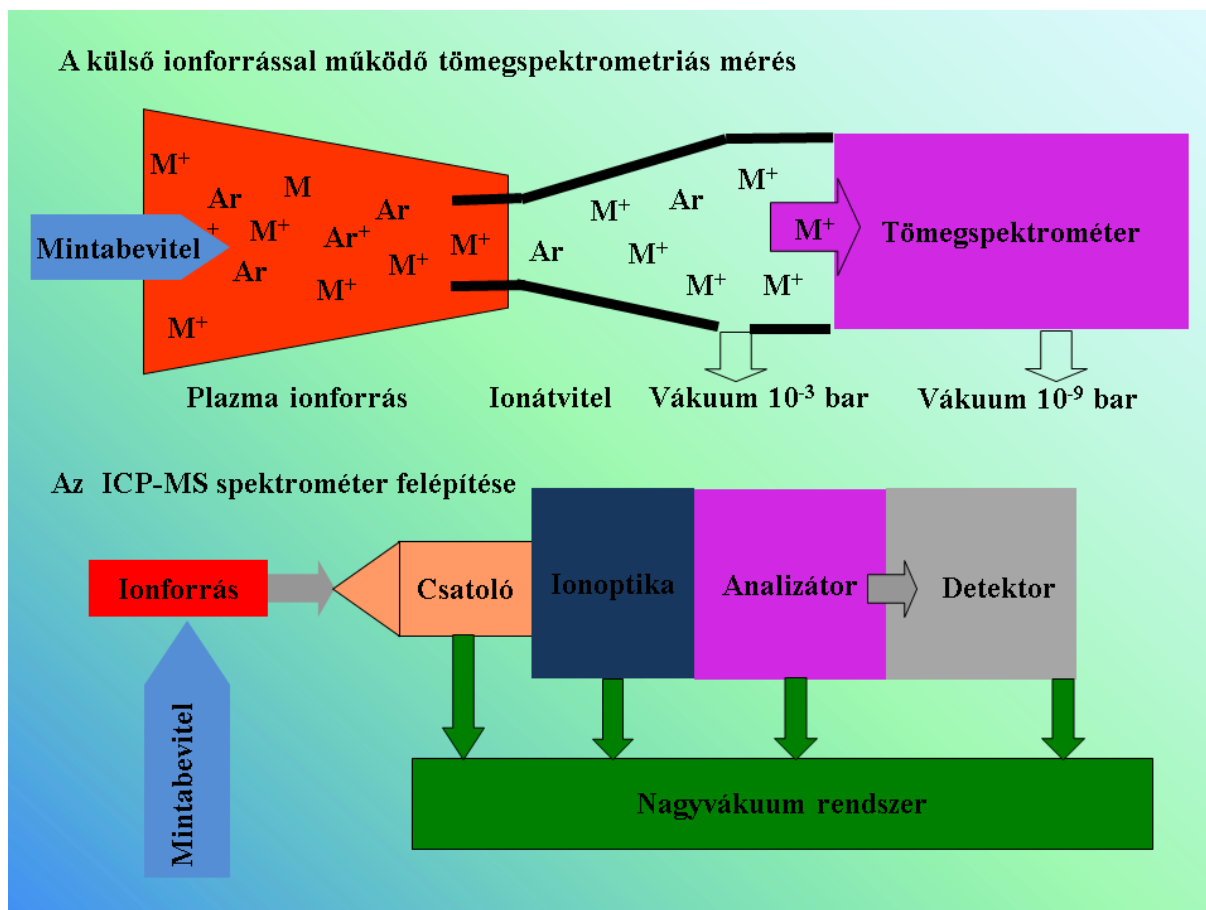
- a fényforrás,
- az atomforrás,
- a mintabeviteli egység,
- monokromátor és a
- detektor.

Az atomfluoreszcenciás készülékben a megvilágítás és az észlelés optikai tengelye egymásra merőleges, hogy a megvilágító fény ne zavarja a fluoreszcencia fény mérését. Az atomfluoreszcenciás elvet kereskedelmi készülékekben korlátozottan használják. A Hg, As, Se és néhány más elem meghatározására gyártanak egyszerű felépítésű, interferenciaszűrős készülékeket (Hg-AF, hydride-AF).

A külső ionforrással működő tömegspektrometriás módszert kísérő atomi folyamatok

Az atomspektroszkópiában használt sugárforrások egy része, az ICP-sugárforrás és a GD-sugárforrás alkalmasnak bizonyult elemanalitikai célú tömegspektrométerek külső ionforrásának is. A plazma ionforrásban (pl. induktívcsatolású plazma, ICP) a bevitt mintát alkotó elemek jelentős hányadban egyszeres töltésű pozitív ion állapotban találhatóak. A plazma gázokat ionátviteli egységen át beszívva a tömegspektrométerbe elvégezhető az M^+ -ionok tömegspektrometriás meghatározása. Az ICP-MS-készülék egységei: (2.1.5.4. ábra)

- ICP-ionforrás,
- mintabeviteli egység,
- csatoló egység,
- ionoptika,
- tömegspektrometriás analizátor,
- detektor és
- nagyvákuum rendszer.



2.1.5.4. ábra. A külső ionforrással működő tömegspektrometriás módszert kísérő atomi folyamatok és az ICP-MS-spektrométer felépítése

2.1.6. Az analitikai atomspektroszkópia fontosabb sugárforrásai és atomforrásai

Az **atomemissziós sugárforrások** a minta komponenseit szabadatomokra, szabadionokra bontják, az atomokat, ionokat gerjesztik és a gerjesztett részecskék spontán fotonemissziója hordozza az analitikai információt. A **termikus sugárforrásokban** a nagy hőmérsékletű közeg párologtatja el és atomizálja a mintát és a gerjesztés is ugyanabban a közegben történik, elsősorban termikusan, azaz atomokkal, molekulákkal, elektronokkal történő ütközéssel.

Az analitikai gyakorlat szempontjából fontosabb termikus sugárforrások:

- a lángok (hőmérséklet 1800–2900 °C),
- az induktívcsatolású plazma (hőmérséklet 6000–8000 °C),
- a nagyfeszültségű szikrakisülés (hőmérséklet 5000–30000 °C).

A **nemtermikus sugárforrásokban** kisnyomású nemesgázban (argon, neon) elektromos erőterben létrehozott nagy energiájú pozitív ionokkal (Ar^+ , Ne^+) bombázzuk a katódként kapcsolt fém mintát és a katódporlasztással előállított szabadatomokat nagy energiájú elektronokkal gerjesztjük. A nemtermikus sugárforrások közül a (i) sík katódos glimmlámpa (glow discharge, GD) használatos mint elemző sugárforrás sík fémfelületek elemzésére, (ii) az üreges katódos glimmlámpát (hollow cathode lamp) elsősorban az atomabszorpciós műszerekben használjuk, mint vonalas spektrumú fényforrást (vájtkatódú lámpa). A nemtermikus sugárforrásokban nem szükséges nagy hőmérséklet az atomizáláshoz és gerjesztéshez.

A **termikus atomforrások** nagy hőmérsékletű térben párologtatják el a mintát, disszociálják (atomizálják) a molekulákat és fenntartják az atomos állapotot a vizsgálat során. Az atomabszorpciós és atomfluoreszcenciás mérésekhez a minta meghatározandó komponenseit szabadatomos gázállapotba kell hoznunk. A szabadatomos állapotot megvalósító készülékegységeket atomforrásoknak

nevezük. Az atomforrások jellemző hőmérséklete 1000–2800 °C. Ez elegendő a szabadatomos állapot előállítására, de maga a forrás csak a könnyen gerjeszthető elemeket (alkálifémek) gerjeszti.

A termikus analitikai atomforrások közül

- a lángok,
- az elektrotermikus atomizálók (ETA, grafitkemence, kvarckemence) a legfontosabbak.

Nemtermikus atomforrásnak tekinthetjük a hideg gőzös atomabszorpciós vagy atomfluoreszcenciás higany meghatározás reaktorát, amelyben a Hg²⁺-ionok kémiai redukciójával állítunk elő szabadatomos higanygőzt, amely szobahőmérsékleten is szabadatomos állapotban marad.

Lángsugárforrás és atomforrás

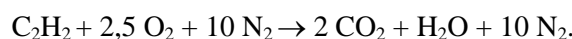
A lángok a legrégebben használt sugárforrások és atomforrások. Az atomos gázok vonalas emissziójának és abszorpciójának törvényszerűségeit Bunsen és Kirchhoff (1895) lángba bevitt fém sók spektrumi alapján fogalmazta meg, és lángspektrumok vizsgálatával új elemeket is felfedeztek (Cs és Rb).

A műszeres analitikában az emissziós lángfotometria használja a lángokat sugárforrásként és az atomabszorpciós spektrometria atomforrásként. A jelenleg használt műszerekben különböző éghető gázokból (acetilén, propán, hidrogén) létrehozott stacioner, lamináris, lángokat alkalmazhatunk. A porlasztásos mintabevitelt levegő, dinitrogén-oxid vagy argongázzal végezzük. Az égést tápláló gáz (levegő, dinitrogén-oxid) a porlasztás mellett egyben az égéshez szükséges oxigént is biztosítja. Az égést tápláló oxigén bevitelének módjától függően megkülönböztetünk **diffúziós és előkevert lángokat**. A **stacioner lángokra** jellemző, hogy a láng helyzete az égőfejen állandó, a lángzónák helye nem változik. A **lamináris lángokban** az égőfejen átáramló gázok és az égést követően keletkezett égéstermék-gázok áramlási sebessége is a lamináris tartományba esik, és ennek megfelelően jól meghatározott, stabil lángzónák alakulnak ki, ami kedvező az analitikai alkalmazásokban.

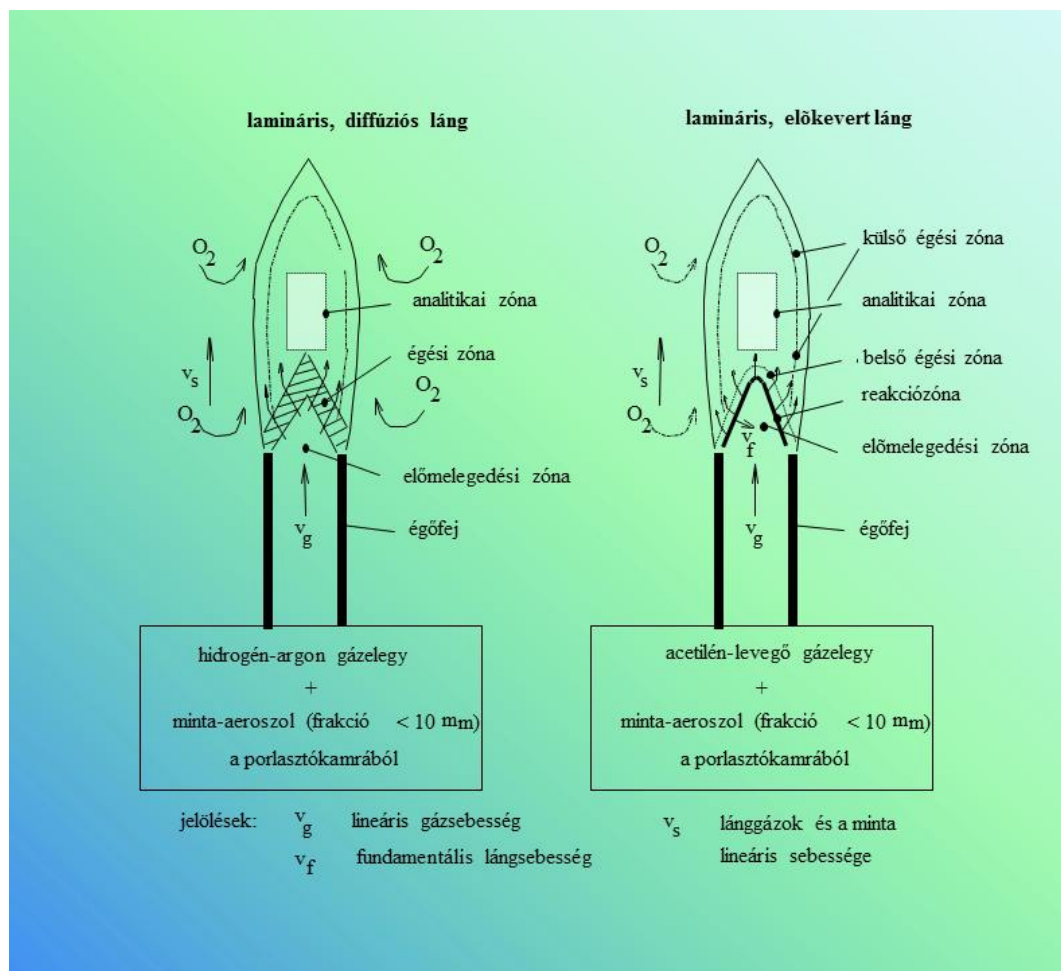
A diffúziós lángokban (2.1.6.1. ábra) az éghető gáz általában hidrogén és annak egy inert gázzal (argon) alkotott elegye, ez áramlik az égőfejen keresztül. Az égéshez szükséges oxigén a környező levegőből diffúzióval lép be a lángba. Ez a láng viszonylag alacsony hőmérsékletű, ezért csak korlátozottan alkalmazható, amikor előny a láng nagyon kicsi saját emissziója és abszorpciója (Hg-, As-, Se-, Sn-, Sb-meghatározás, atomfluoreszcenciás mérések).

Az előkevert lángok esetében (2.1.6.1. ábra) az éghető gázt és az égéstápláló gázt az égőfej előtt összekeverjük és az égőfej felett gyújtjuk meg a kiáramló gázelegyet. Az előkevert lángokban az előmelegedési zónát nagyon határozott helyzetű, néhány tized milliméter vastag kúpos reakciózóna követi, melyben a betáplált gázelegy összetételének megfelelő égési reakció (gyökös mechanizmusú láncreakció) lejátsszódik, de a rövid tartózkodási idő miatt a termikus egyensúly itt még nem áll be. Az égési folyamat sebességvektora a kúpfelületre merőleges és a kúp belseje felé mutat. A folyamat a szélesebb, belső égési zónában fejeződik be, itt történik a gázok termikus expanziója is. A környező levegőből belépő oxigén hatására egy külső égési zóna is kialakul.

A lángot úgy tekinthetjük, mint egy nagyon exoterm reakció gázalakú égéstermékét, amely nagy hőmérsékletű szabad gázsugárként nagy sebességgel áramlik a környező álló levegőben. A sztöchiometrikus levegő-acetilén láng égési reakciója:



A lánggázban 73% N₂, 7% H₂O, 11,6% CO₂, 4,1% CO, O₂ a főalkotók és 1% alatti mennyiségben H-gyök, O-gyök, OH-gyök, CH-gyök és NO is található. A dinitrogén-oxid acetilén lángban CH-gyök, C₂-gyök és CN-gyök is található és a levegő-acetilén lánghoz viszonyítva kicsi a szabadoxigén-koncentráció. A nagyobb hőmérséklet mellett ennek a kevésbé oxidatív kémiai környezetnek is döntő szerepe van a minta atomizálásában és gerjesztésében. Az adott láng hőmérséklete és összetétele változik a lánggázok keverési arányával és zónák szerint is. Ezzel összefüggésben változnak az atomizáló és gerjesztő tulajdonságok is. A bruttó reakcióból kiindulva beszélünk sztöchiometrikus lángról, nagyobb éghető gázaránynál redukáló lángról, illetve kisebb éghető gázaránynál oxidáló lángról. A kedvező lángbeállítás keresésekor az összetételt és a megfigyelési magasságot együtt kell optimalálni.

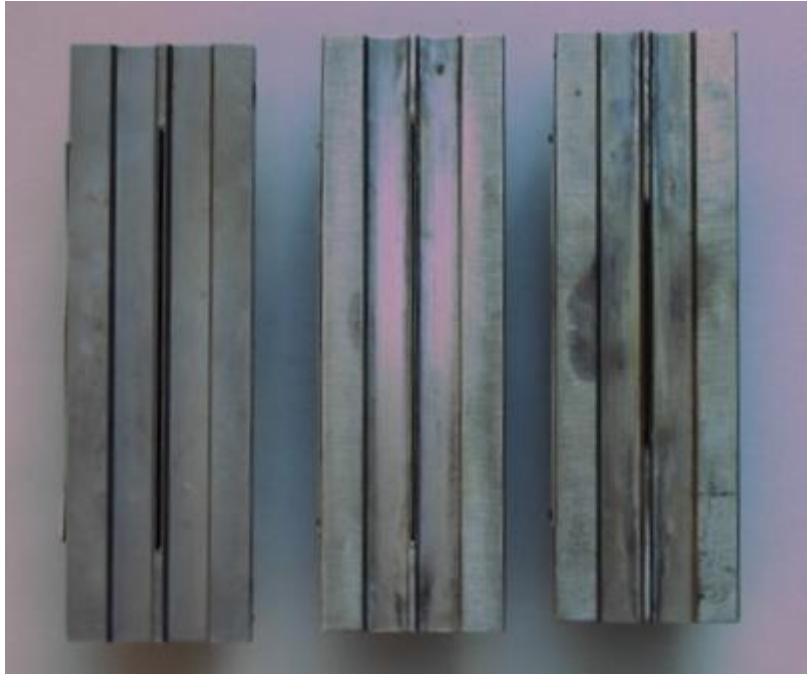


2.1.6.1. ábra. Diffúziós és előkevert láng felépítése

A lángfotométerekben és láng-atomabszorpciós készülékekben alkalmazott legfontosabb lángok adatait – lánghőmérséklet, lángsebesség (v_f), lineáris gázsebesség (v_g) – a 2.1.6.1. táblázatban adjuk meg. A megadott égőfejnyílás-méreték atomabszorpciós készülékre és 8 l/min levegő, illetve N_2O sebességre vonatkoznak. A reakciózóna fent bemutatott stabil helyzetét az égőfej megfelelő méretezésével biztosítjuk. Az égőfejen átáramló gáz sebességét biztonsági okokból a láng sebességénél 2-3-szor nagyobbra választjuk. Ha a gázsebesség kicsi, a reakciózóna az égőfejen keresztül belép a keverőkamrába és a zárt térben robbanást okoz. Jó készülék-konstrukciónál az ilyen visszaroobbanás nem okoz komoly károkat, de törekednünk kell az elkerülésére. A levegő-propán és levegő-acetilén égőfejek méretezése olyan, hogy a égőfej kioltó hatása teljes. A gázsebesség hibás választása esetén sem történik visszaroobbanás. A dinitrogén-oxid-acetilén láng esetén a kioltó hatás nem teljes, ezért ezt a lángot csak speciális begyűjtési és kioltási szekvenciával lehet biztonságosan alkalmazni. Az égőfejeket meghatározott gázelegyhez tervezik és csak azokkal használható, felcserélésük tilos (2.1.6.2. ábra). A lángok biztonságos használatát ún. automata, biztonsági gázadagoló egységek segítik a korszerű készülékekben.

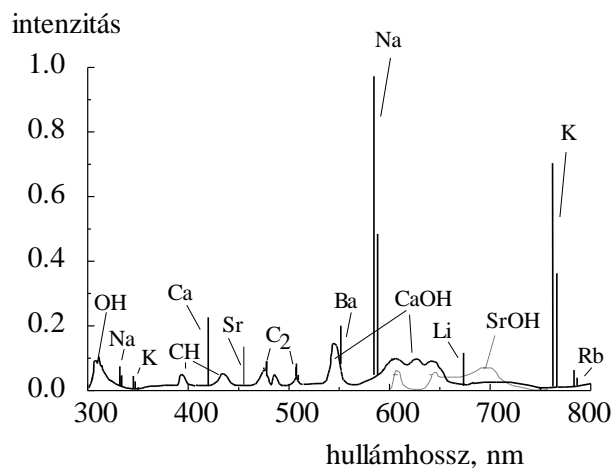
Égéstápláló gáz	Éghető gáz	Lánghőmérséklet °C	Láng-sebesség cm/s	Gáz-sebesség cm/s	Égőfejnyílás mm
levegő	propán	1900	43	120	1,4×100
levegő	acetilén	2300	160	430	0,4×100
dinitrogén-oxid	acetilén	2800	260	700	0,4×60

2.1.6.1. táblázat. Előkevert lamináris lángok jellemző tulajdonságai és az égőfejek adatai



2.1.6.2. ábra. Égőfej sorozat: levegő-propán, levegő-acetilén és dinitrogén-oxid-acetilén lánghoz

A lángok jellegzetes folytonos és sávos elemeket tartalmazó háttérspektrumot adnak. Az OH-sávok (308 nm) minden lángban megjelennek, a szénhidrogénlángokban CH-, C₂-, CN-sávokat is találunk. A folytonos háttér és a sávok intenzitása változik a hely és a gázarány függvényében, de függ a lángba bevitt elemektől is. A háttérspektrumhoz hozzáadódnak a lángba bevitt fémekből keletkező szabadatomok vonalai és a lángban stabil molekulák (MeO, MeOH) sávos emissziója is (2.1.6.3. ábra).



2.1.6.3. ábra. Alkáli és alkáliföldfémek emissziós spektruma levegő-acetilén lángban

Termikus sugárforrások és atomforrások	
Paraméter	Láng
Energiaforrás	reakcióhő, gyökös mechanizmusú láncreakció H ₂ -Ar, L-Pr, L-Ac, N ₂ O-Ac láng
Hőmérséklet	1800–2900 °C
Elektronkoncentráció	kicsi, ionizációs puffer (Cs ⁺ , K ⁺)
Oxigénkoncentráció	nagy (N ₂ O-Ac lángban kicsi)
Atmoszféra	levegő
Minta	oldat
Mintabevitel	pneumatikus porlasztás
Spektrum	atomvonalak, molekulaszávok
Jel	stacioner
Egyéb tulajdonságok	szabad gázsugár, áramló közeg, v _g = 5–15 m/s

2.1.6.2. táblázat. Láng sugárforrás és atomforrás tulajdonságai

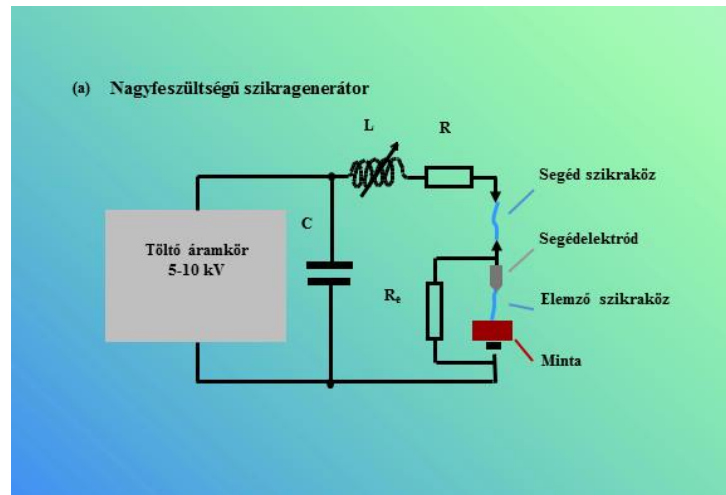
Nagyfeszültségű szikra sugárforrás

Az egyenáramúv sugárforrás és a szikra sugárforrások különböző változatai 1930-tól kezdődően terjedtek el, mint az emissziós színképelemzés, a spektrográfia sugárforrásai. A spektrográfias módszerek egészen a 1970-es évekig döntő szerepet játszottak az elemanalitikai, nyomelem-analitikai laboratóriumokban. Az atomabszorpciós és ICP-OES-módszerek megjelenése a spektrográfias módszereket jelentősen visszaszorította, de a szikra sugárforrás alkalmazása továbbra is fennmaradt a szikra spektrométerek sugárforrásaként.

A nagyfeszültségű szikra sugárforrás tápegységének működését elvét a kapcsolási rajz (2.1.6.4. ábra/a) segítségével érthetjük meg. A C kondenzátort (5–20 μF) nagyfeszültségű töltőáramkörrel 5–20 kV feszültségre töltjük fel, majd a kondenzátorban tárolt energiát az elemző szikraközön, azaz a minta és a segédelektrod között, az L (0,01–5 mH) induktivitáson az R (0,1–0,5 ohm) ellenálláson és a segédzikraközön keresztül kisütjük. A kisülés beindulását segíti az elemző szikraközrel párhuzamosan kapcsolt R_e ellenállás (1 M Ω). A segédzikraköz beállítása szabja meg, milyen feszültségnél indul meg a kisülés.

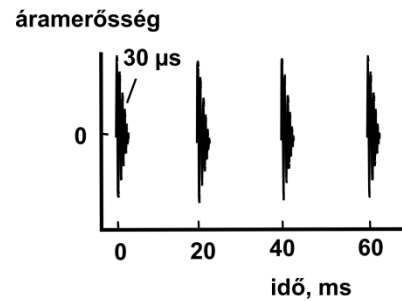
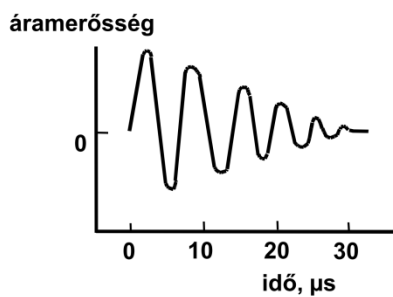
Mivel a kisülési kör rezgőkört alkot, ezért egy ún. fő kisülésen belül az áramerősség és ezzel a hőmérséklet a rezgőkör saját frekvenciájának megfelelően, periodikusan változik (2.1.6.4. ábra/b). A részkisülésekben az áramerőssége 2000–500 A, a részkisülések időtartama 15–30 μs , a részkisülések száma 10–20. A főkisülések 20–100 ms-os időközökben követik egymást (2.1.6.4. ábra.). Egy elemzés során több száz kisüléssel mintázzuk a felületet. A kezdeti részkisülések alatt a hőmérséklet 30000–10000 °C, ami kedvező a nemfémek gerjesztéséhez, majd a későbbi szakaszban 10000–5000 °C, ami a fémek gerjesztésére optimális, és így valamennyi alkotó vonalai megjelennek a színképben. A szikra spektrumban az atomvonalak mellett az egyszeresen és kétszeresen ionizált elemek vonalai dominálnak. A spektrumok nagyon vonaldúsak, ezért nagy felbontású polikromátorok használata szükséges.

Az elektrodok végfelületén, a szikratámadás helyén, lokálisan elegendően magas a hőmérséklet valamennyi fém elpárologtatásához, de a kisülések rövid időtartama miatt a minta átlaghőmérséklete csak kevéssé növekszik a szikráztatás alatt. Ez lehetővé teszi, hogy fém próbatesteket, fém alkatrészeket vagy fémanyagokat közvetlenül elemezzünk.



(b) Az áramerősség változása egy kisülésen belül

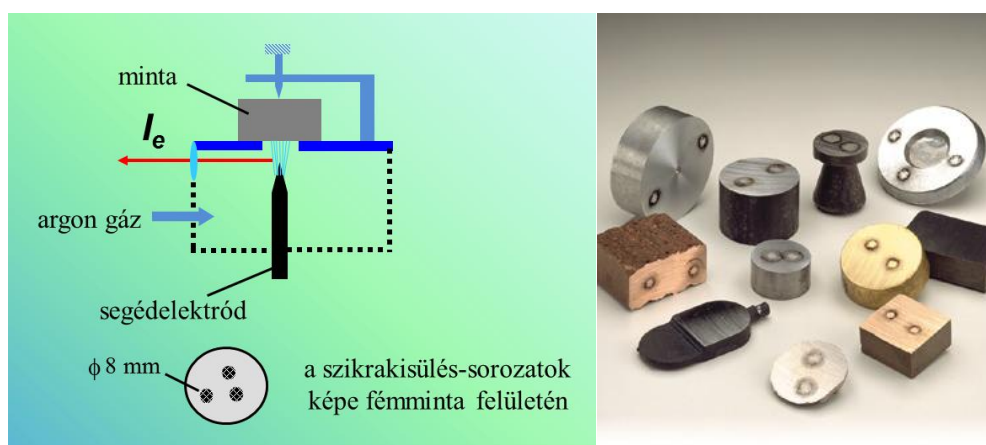
(c) Az áramerősség változása a kisülési sorozatban



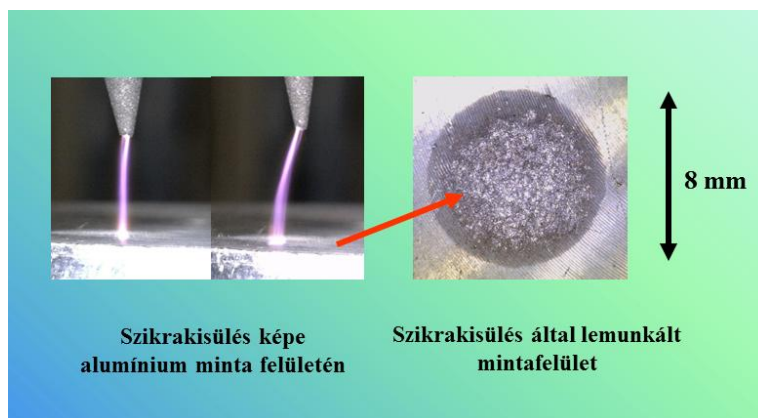
2.1.6.4. ábra. Nagyfeszültségű szikra sugárforrás és a szikrakisülés

A szikragerjesztésnél szokásos elektródelrendezést és különböző anyagú vizsgálati minták fényképeit a 2.1.6.5. ábra mutatja. A minták felületén látható foltok a szikrakisülések nyomai.

A szikrakisülésről készült közeli fényképeket és a minta felületén a kisülés hatására keletkezett krátereket a 2.1.6.6. ábra mutatja.



2.1.6.5. ábra. Elektródelrendezés szikra sugárforrásban és vizsgálati minták képei



2.1.6.6. ábra. A szikkrisisülés képe és a szikkrisisülés hatására alumíniumminta felületén keletkezett kráterek

A nagyfeszültségű szikkrisisülés tulajdonágait a következő táblázatban foglaltuk össze.

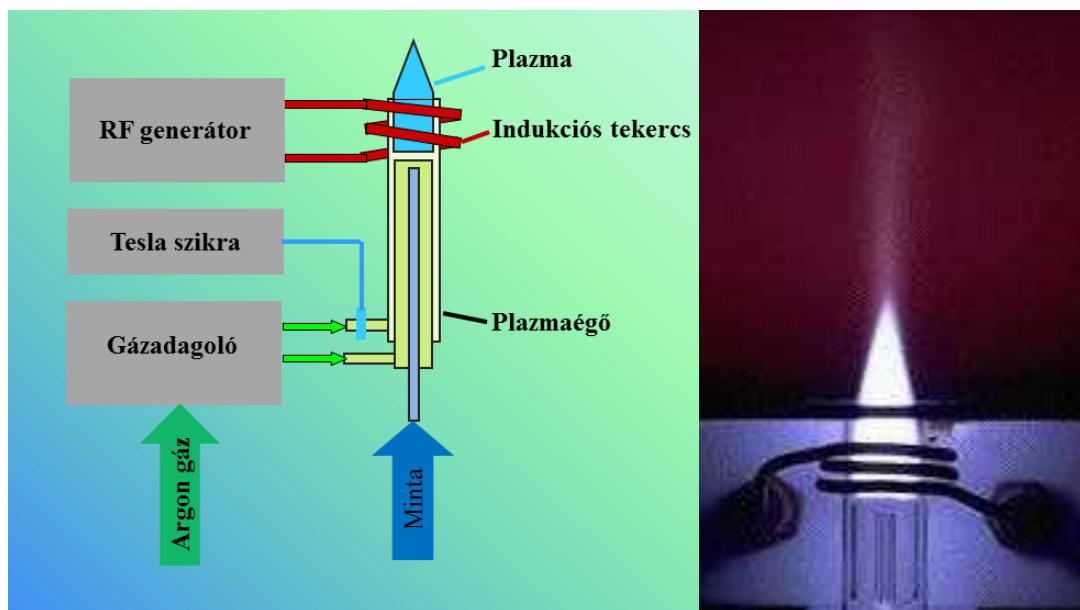
Termikus sugárforrások	
Paraméter	Nagyfeszültségű szikkrisisülés
Energiaforrás	szakaszos elektromos kisülés, szikra plazma, $U_{sz} = 5\text{--}20\text{ kV}$, $i_{sz} = 200\text{--}1000\text{ A}$, $t_{sz} = 15\text{--}30\text{ }\mu\text{s}$
Hőmérséklet	30000–10000 °C (kezdeti) 10000–5000 °C (végső)
Elektronkoncentráció	közepes
Oxigénkoncentráció	nagy (levegő), kicsi (argon)
Atmoszféra	levegő vagy argon
Minta	fémtestek, fémtárgyak, vezető vagy vezetővé tett porok, beszárított oldatok
Mintabevitel	A szikkrisisülés a támadás helyén lokálisan, termikusan diszpergálja a mintát és ez lép be a szikkrisisplazmába. Nincs jelentős szelektív párolgás.
Spektrum	ionvonalak, atomvonalak
Jel	nem stacioner, integráló jelfeldolgozás szükséges
Egyéb tulajdonságok	a minta nem melegszik fel jelentősen

2.1.6.3. táblázat. A nagyfeszültségű szikkrisisülés tulajdonságai

Induktív csatolású plazma sugárforrás és ionforrás

Az induktív csatolású plazma (ICP) a legszélesebb körben alkalmazott emissziós sugárforrás oldatok elemzésére és külső ionforrása az ICP-MS módszernek. Az ICP-forrásra alapozott ICP-OES- és ICP-MS-módszer a legfontosabb az elemanalitikai, nyomelemanalitikai módszer.

Az Ar-Ar-ICP-ben a plazmát argongáz alkotja és a mintabevitel is argongázzal történik. A plazmát az ionizált argongázba bevitt, (becsatolt) 0,8–2 kW rádiófrekvenciás energia hozza létre és tartja fenn folyamatosan. Egy ICP-sugárforrás az alábbi fő egységekből épül fel: (i) rádiófrekvenciás generátor, (ii) gázadagoló egység, (iii) plazmaégő, (iv) Tesla szikra egység és (v) indukciós tekercs (2.1.6.7. ábra). A generátorokat 27,12 MHz vagy 40,68 MHz ipari frekvencián működtetjük.



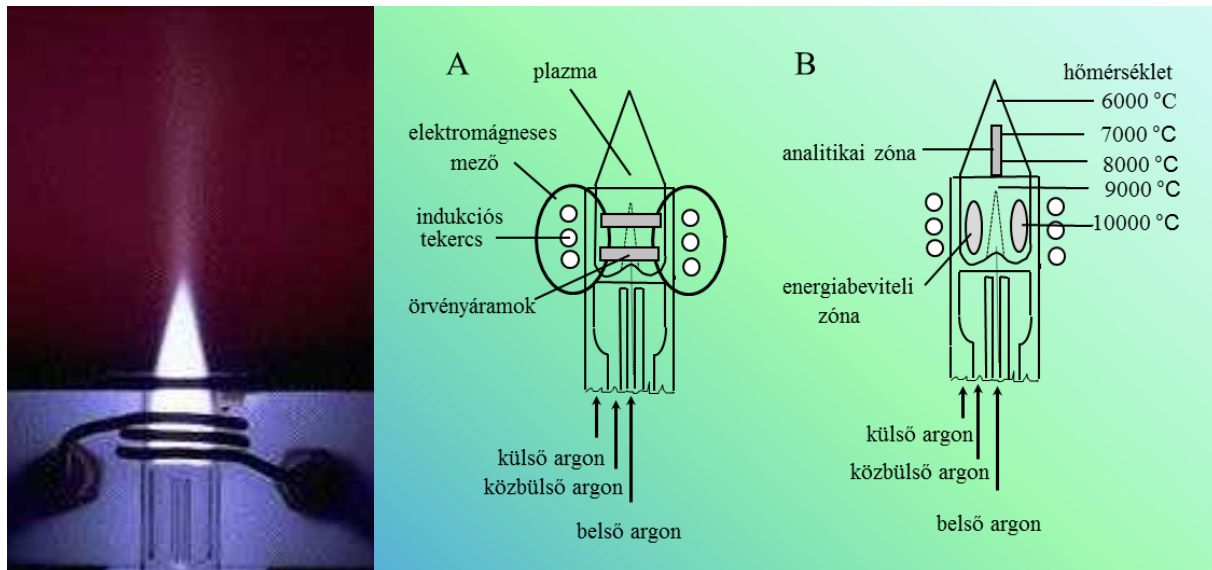
2.1.6.7. ábra. Az induktív csatolású plazma sugárforrás részegységei és fényképe

A plazmaégőt kvarccsövekből alakítják ki (2.1.6.8. ábra), amit a rádiófrekvenciás generátorhoz csatolt 2–4 menetes indukciós tekercsbe helyezünk. A plazmaégőt három elkülönített argongázárammal működtetjük: (i) a **külső argon** (8–15 l/min) egy része a belső térben alkotja a plazmát, a fal közelében áramló része viszont hűti a plazmaégőt, (ii) a **belső argonnal** (0,5–1,2 l/min) visszük be a mintaaeroszolt, míg a (iii) **közbülső argon** (0–3 l/min) segédplazmagázként szolgál (pl. nagy szervesanyag-tartalmú minták vizsgálatakor).

A plazma indításához, begyújtásához Tesla szikra UV-sugárzásával ionizáljuk a külső argongázt. Az ionizált argongázban lévő szabad elektronok a rádiófrekvenciás, elektromágneses tér hatására örvényáramot hoznak létre. Az örvényáramzónában nagy sebességgel mozgó elektronok kb. 10000 °C-os hőmérsékletet hoznak létre. A kialakuló plazma már önfenntartó. A beáramló hideg argongáz a plazmában ionizálódik, és a keletkező szabad elektronok már képesek az RF-energia folyamatos felvételére, a plazmaállapot fenntartására. A nagy hőmérsékletű plazmagázok kb. 0,5–1 m/s-os sebességgel áramlanak tovább, majd a környező levegőben lehűlnek. Fontos tudni, hogy a plazma pozíciója az indukciós tekercshez kötött, ezért a plazmaégőt gondosan pozicionálva kell behelyezni, hogy az injektorcső ne hevüljön túl.

A plazma toroidális (gyűrű) szerkezetű. Ez kedvező, mert a plazmába alulról, tengely irányban gázsugárral bevitt mintaaeroszolt körkörös nagy hőmérsékletű plazmagáz veszi körül. Ilyen körülmények között a minta párolgása, atomizálása és gerjesztése nagyon hatékony.

Az analitikai zóna hőmérséklete 6000–8000 °C. A plazmát ionizált argongáz és elektronok alkotják (Ar , Ar^+ , Ar_m^+ [m = metastabil], Ar_2^+ , e^-). A plazma hőmérsékletén a plazmába betáplált argon kb. 10–15%-ban ionizálódik. Ha az elektronok és ionok száma valamilyen okból a kritikus szint alá csökken, például a plazmába bevitt gázok, anyagok (O_2 , N_2 , CO_2 , NH_3 , H_2O , szerves oldószer stb.) hatására az energiafelvétel lecsökken, a plazma kialszik. A plazmában nagy az elektronkoncentráció (10^{14} – 10^{16} cm^{-3}) és viszonylag kicsi az oxigénkoncentráció. Ez utóbbi segíti a fémoxidok hatékony disszociációját. A minta belépés lineáris sebessége kb. 1–2 m/s. Az elporlasztott oldatmintát, nedves vagy száraz aeroszol formában a plazma közepébe visszük be megfelelő lineáris sebességgel áramló argongázzal, amely megnyitja a plazma külső felületén található réteget. A mintagáz által létrehozott csatornában a hőmérséklet kezdetben alacsony, majd fokozatosan felveszi a környező plazma hőmérsékletét. A plazma hőmérséklete az energiabeviteli zónában elérheti a 10000 °C-t is.

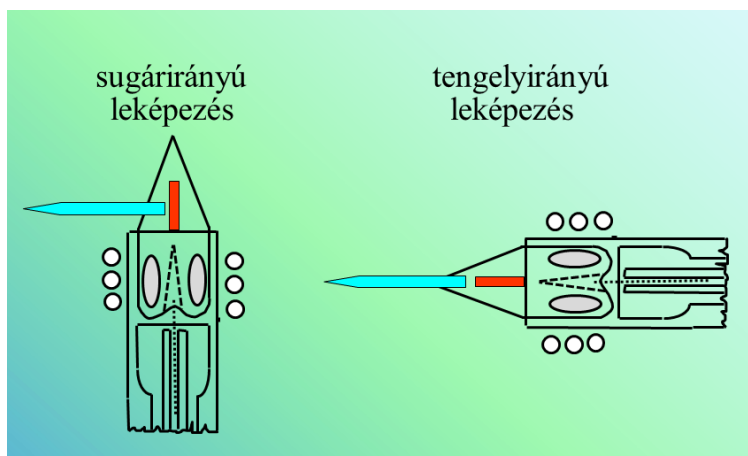


2.1.6.8. ábra. Az induktív csatolású plazma felépítése és működése

Az induktív csatolású plazma működtetése technikailag nagyon nehéz feladat. Az egyik nehézség a plazmaéggő megóvása a megolvadástól. A kb. 8000 °C-os plazmát távol kell tartani az 1600 °C olvadáspontú kvarcból készült plazmaéggőtől, úgy hogy közben a plazma ne aludjon ki. Ezt a nagy sebességű külső argon hűtő hatása valósítja meg.

A másik nehézség a rádiófrekvenciás energiabevitel oldalán jelentkezik. A hatékony energiabevitel feltétele az, hogy az RF-generátor kimenő impedanciája (pl. 50 ohm) azonos legyen a plazmaegység (plazmaéggő + plazma + indukciós tekercs) pillanatnyi impedanciájával. A plazmaegység impedanciája viszont jelentősen változik az állapotoknak megfelelően: (i) nem működik a plazma, (ii) működik a plazma, (iii) mintabevitel történik a plazmába stb. Ha jelentős impedanciaeltérés van, a teljes energia „visszaverődik” és az RF-generátor végfokozatát másodpercek alatt leégeti. A problémát hangolható impedancia csatoló egységgel, és hibafigyelő egységekkel oldják meg.

A plazma sugárforrásból származó analitikai információt hordozó optikai sugárzás leképezése (tükörrel vagy lencsével történő vetítés) az esetek többségében sugárirányban történik (2.1.6.9. ábra). A megfigyelt zóna jellemzésére a megfigyelési magasságot használjuk, amit a csatoló tekercs felső pontjához viszonyítva mérünk. A leképezés újabban alkalmazott, technikailag nehezebben megvalósítható módja a tengely irányú leképezés, amely a sugárzás nagyobb részét hasznosítja és kedvezőbb analitikai paramétereket szolgáltat. A tengelyirányú leképezést nehezítik a 3000–4000 °C-os korrózív plazmagázok.



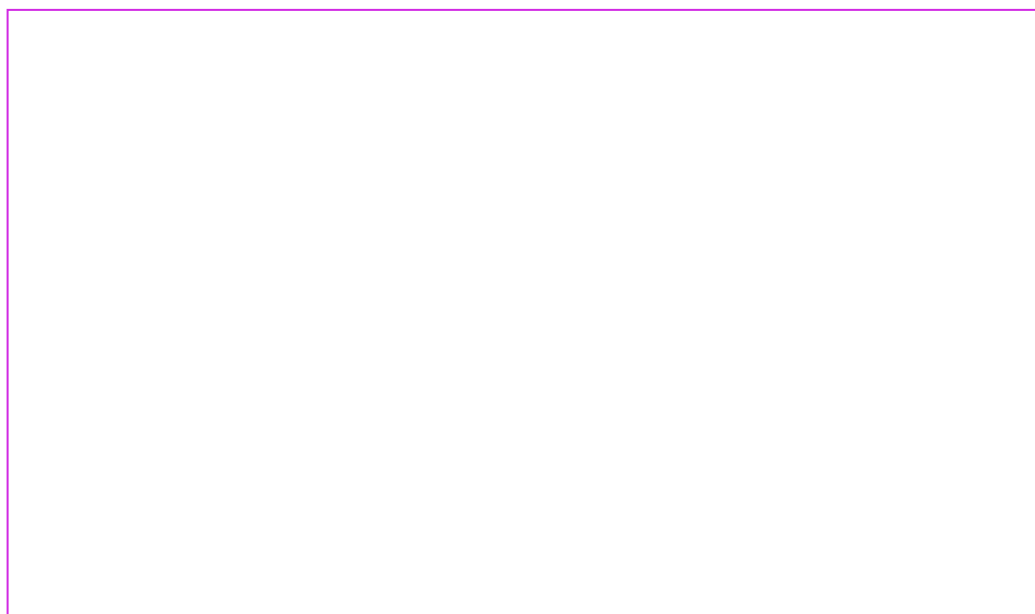
2.1.6.9. ábra. Az ICP plazma leképezési módjai

Az indukzív csatolású plazma tulajdonságait az alábbi táblázatban foglaltuk össze.

Termikus sugárforrások	
Paraméter	Induktív csatolású plazma
Energiaforrás	27 MHz vagy 40 MHz frekvenciájú 0,8–2,0 kW teljesítményű rádiófrekvenciás energia. Az áramló, ionizált argongázt plazmaállapotban tartja.
Hőmérséklet	6000–8000 °C
Elektronkoncentráció	nagy, 10^{14} – 10^{16} cm ⁻³
Oxigénkoncentráció	kicsi
Atmoszféra	argon
Minta	oldat
Mintabevitel	pneumatikus vagy ultrahangos porlasztás
Spektrum	ionvonalak és atomvonalak
Jel	stacioner
Egyéb tulajdonságok	szabad gázsugár, áramló közeg, áramlási sebesség, $v_g = 0,5$ – 1 m/s

2.1.6.4. táblázat. Az indukzív csatolású plazma tulajdonságai

VIDEÓ



2.1.6.1. videó: Induktív csatolású plazma begyűjtása és beállítása

Nemtermikus sugárforrások, ionforrások, síkkatódos glimmlámpa

A nemtermikus elvű sugárforrások a kisnyomású kisülési csövek csoportjába tartoznak, amelyekben a töltéshordozó részecskék elektromos erőterben gyorsítva vesznek fel energiát, és így keletkeznek a gerjesztést végző nagy energiájú elektronok és a mintát atomizáló nemesgázionok. A nemtermikus sugárforrások közül analitikai sugárforrásként, illetve külső tömegspektrometriás ionforrásként a síkkatódos glimmlámpát használjuk. A katódként kapcsolt vezető minta anyaga ionbombázás hatására kerül szabadatomos állapotba és az elektromos erőterben felgyorsított elektronok gerjesztik, ionizálják.

Az üreges katódos glimmlámpákat (vájtkatódú lámpa) az atomabszorpciós készülékekben használjuk, elem-specifikus, vonalas spektrumú fényforrásként. A síkkatódos glimmlámpa és az üreges katódos glimmlámpa tulajdonságait az alábbi táblázatban foglaltuk össze.

Paraméter	Nemtermikus sugárforrások	
	Sík katódos glimmlámpa	Üreges katódos glimmlámpa
energiaforrás	elektromos energia, kisnyomású (Ar, Ne) kisülés, elektromos erőterben gyorsított elektronok és nemesgázionok	
hőmérséklet	a minta hőmérséklet kicsi, a gerjesztési hőmérséklet nagy 10000–20000 K	
elektronkoncentráció	nagy	
oxigénkoncentráció	kicsi (Ar, Ne)	
atmoszféra	argon vagy neon	
minta	sík fémfelület, kisméretű fémminta	fém, fémötvet, bevonat a katódüregben
mintabevitel	katódporlasztás ionbombázással (Ar ⁺ , Ne ⁺)	
spektrum	atomvonalak, ionvonalak	
jel	stacioner	
energiaforrás	elektromos energia, kisnyomású (Ar, Ne) kisülés, elektromos erőterben gyorsított elektronok és nemesgázionok	

2.1.6.5. táblázat. A sík katódos és üreges katódos glimmlámpa tulajdonságai

Elektrotermikus atomizáló

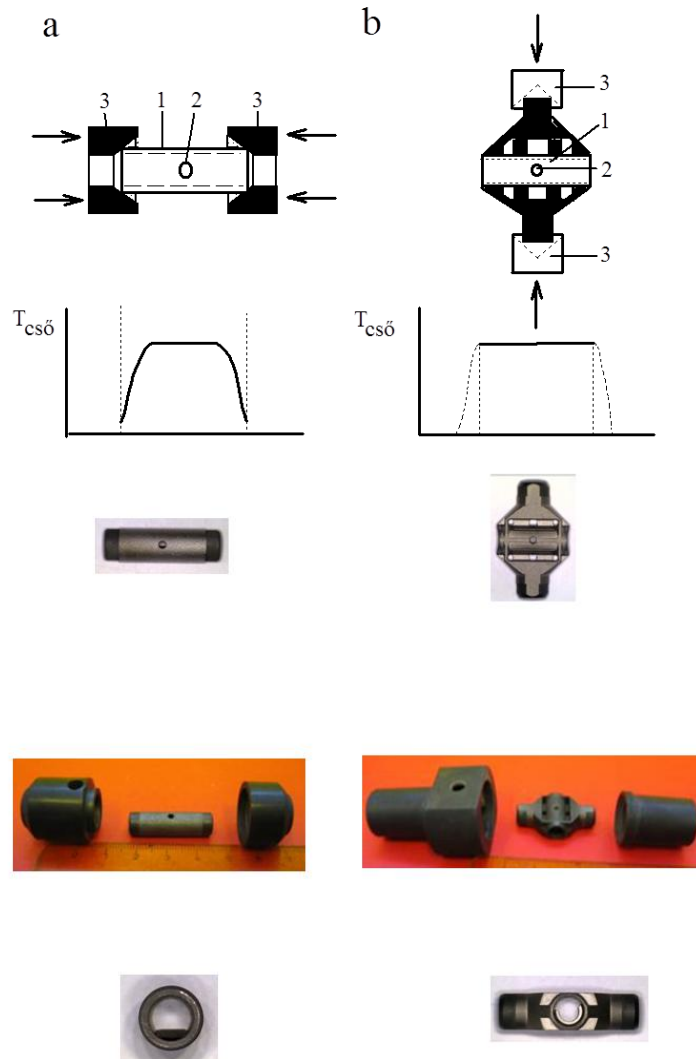
Az elektrotermikus atomizálást grafitkemencével valósítjuk meg. A GF-AAS-készülékbe 10–20 µl oldatot, esetenként néhány mg szilárd mintát juttatunk be az elektromos áram átvezetésével közvetlenül fűthető, az oxidációtól argongázzal védett grafitcsőbe. A grafitcsőben az atomizálási szakaszban (2000–2800 °C) a minta komponenseit elpárologtatjuk és az atomabszorpciós meghatározást lehetővé tevő szabadatomos állapotba hozzuk.

A legtöbb grafitkemence konstrukcióban 20–30 mm hosszú, 5–6 mm belső átmérőjű grafitcsövet használunk. A grafitcsövet két, vízhűtéses, állandó erővel záródó grafit segédelektrod közé illesztjük. Ezeket keresztül vezetjük be a cső fűtéséhez szükséges 0–250 amperes áramot és ezek biztosítják a cső szobahőmérsékletre történő visszahűtését is.

A hagyományos, viszonylag egyszerű, **hosszanti fűtésű grafitkemence** konstrukciókban az áramátvezetéssel fűtött grafit elem egy vékonyfalú grafitcső. Az elektromos áram bevezetését és a hűtést szolgáló grafitkónuszok a cső végeihez csatlakoznak (2.1.6.10. ábra/a). A hűtés miatt a hőmérséklet a cső végein mindig lényegesen alacsonyabb, mint a cső középső szakaszán, de a hideg zóna kiterjedése változik a hőmérséklettel.

Az újabb, **keresztirányú fűtésű grafitkemence** konstrukciókban az áramátvezetéssel fűtött grafit elem bonyolult felépítésű, egy darab grafitból kimart test, amely tartalmaz egy a mérőteret alkotó csőszakaszt és két, arra keresztirányban felépített hengeres testet, amely az árambevezetésre és hűtésre szolgáló grafitkónuszokhoz csatlakozik (2.1.6.10. ábra/b). Az áram a grafittest oldalán kialakított

hengeres csatlakozásokon keresztül lép be és a test közepén kialakított csövön keresztirányban halad át. A cső egyes szakaszaira jutó teljesítményt úgy osztják el, hogy a cső teljes hosszában azonos hőmérséklet alakuljon ki. Ez a megoldás kedvezőbb, de a speciális „grafitcső” előállítása költségesebb.



2.1.6.10. ábra. Hosszirányú (a) és keresztirányú fűtés megvalósítása és a cső hőmérsékleteloszlása (grafitcsőfal 1. bemérő nyílás 2. grafit segédelektrodok 3. csövek és grafit segédelektrodok fényképei)

A grafitkemencében 2800 °C maximális hőmérsékletet használunk. A nagy hőmérsékletű szakaszokban argon atmoszférával védjük meg a grafitcsövet a gyors oxidációtól. A grafitkemencében szakaszosan történik a minta hevítése. Szárítási és hőkezelési szakasz után kerülünk a minta elpárologtatását és szabadatomokra bontását végző nagy hőmérsékletű atomizálási szakaszba. Az atomos mintagáz az atomizálást követően, illetve azzal egy időben nagy sebességgel diffundál a környező hideg térbe, ahol megszűnik az atomos állapota. Atomabszorpciós mérés szempontjából csak a grafitcső nagy hőmérsékletű szakasza a hasznos mintatér. A pillanatnyi szabadatom koncentrációt a koncentráció és a szabadatom keletkezési és kiürülési folyamat egyensúlya határozza meg. Ezek a folyamatok tranzien abszorbancia-csúcsokat eredményeznek, ahol a csúcsmagasság és a csústerület arányos a koncentrációval, illetve az anyag mennyiséggel. A grafitkemencében a minta hígulása csak mintegy 100-szoros az atomizálás során, szemben a láng atomizálóval, melyben a hígulás 10000-szeres is lehet. A kisebb hígulás miatt kb. 2–3 nagyságrenddel kisebb oldatkonzentrációval tudunk azonos szabadatom koncentrációt elérni grafitkemencében, mint lángban. Az elektrotermikus atomizáló tulajdonságait az alábbi táblázatban foglaltuk össze.

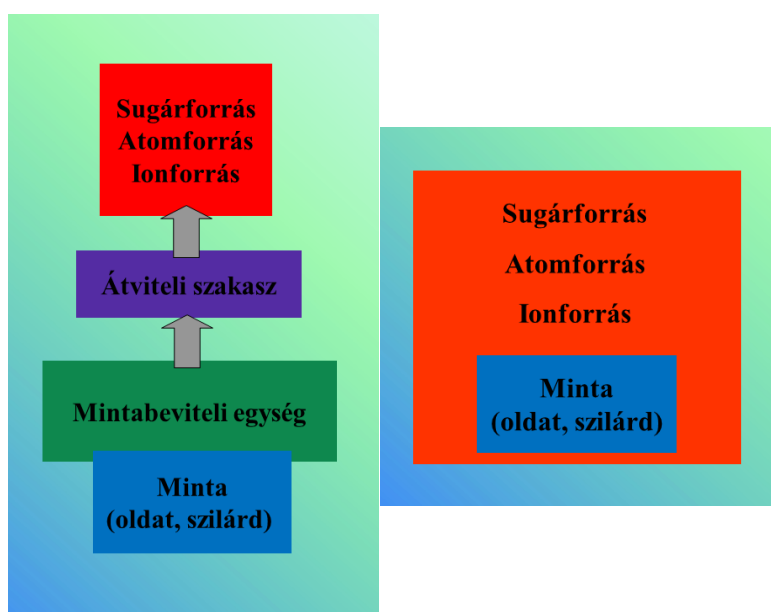
	Termikus atomforrások
Paraméter	Elektrotermikus atomizáló
Energiaforrás	elektromos áram, ellenállásfűtés
Hőmérséklet	2800 °C
Elektronkoncentráció	kicsi
Oxigénkoncentráció	kicsi, argongáz atmoszféra
Atmoszféra	argon
Minta	oldat
Mintabevitel	oldatbemérés, 10–20 µl
Spektrum	atomvonalak
Jel	tranziens jel
Egyéb tulajdonságok	10–15°mm hosszú, 5–6 mm átmérőjű, fűtött grafitcső

2.1.6.6. táblázat. Az elektrotermikus atomizáló tulajdonságai

2.1.7. A sugárforrásokban, atomforrásokban és ionforrásokban lejátszódó folyamatok

Az analitikai atomspektroszkópiában alkalmazott sugárforrásokban, atomforrásokban és ionforrásokban lejátszódó folyamatok alapjai azonosak. Általánosítva a folyamatok az alábbi főbb fázisokra bonthatók: (i) mintabevitel, (ii) oldószer elpárolgása, szilárd fázis kialakulása, (iii) olvadás, olvadék fázisú reakciók, (iv) párolgás, (v) molekulák disszociációja, atomizáció, (vi) ionizáció, (vii) gerjesztés, (viii) fényabszorpció (AAS), fényemisszió (OES, AF). A minta hőmérséklete fokozatosan emelkedik, és a pillanatnyi halmazállapotnak megfelelő értéket veszi fel. Az egyes részfolyamatok egyre nagyobb hőmérsékleten játszódnak le, elérve az atom- vagy sugárforrás hőmérsékletét.

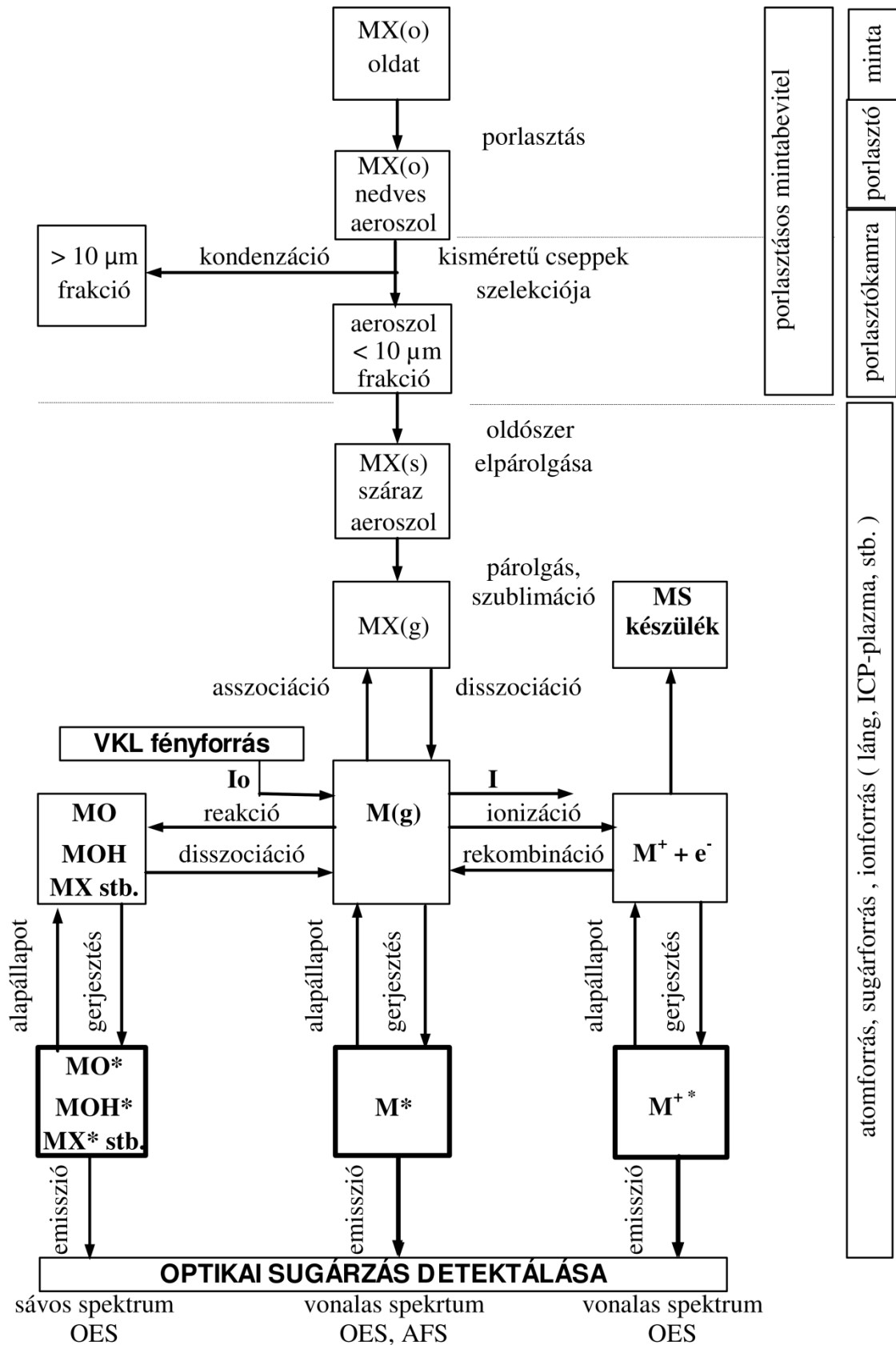
Az analitikai források a megfelelően megválasztott mintabeviteli technikával teszik lehetővé a különböző mintatípusok elemzését.



2.1.7.1. ábra. Mintabevitel kapcsolt forrásokba (a) és integrált forrásokba (b)

A mintabevitel szempontjából az analitikai források két csoportját különböztethetjük meg (2.1.7.1. ábra): (i) kapcsolt források és (ii) integrált források. A kapcsolt források esetében a mintát egy alkalmas mintabeviteli egységgel alakítjuk át a forrásba bevihető gáz, nedves aeroszol vagy száraz aeroszol formába. A mintabeviteli egységből a mintából előállított gázt, nedves aeroszolt vagy száraz aeroszolt szobahőmérsékletű átviteli szakaszon keresztül, gázárammal juttatjuk a nagy hőmérsékletű forrásba. Az ilyen rendszerekben a forrás általában áramló közegű és folyamatos működtetésű pl. láng, ICP. A mintaátalakulás folyamatai ezekben a forrásokban térben elkülönülnek.

Az integrált forrásokban a mintát a nem működtetett, szobahőmérsékletű forrásba visszük be arra alkalmas technikával, majd ezt követően indítjuk a forrás működtetését úgy, hogy a minta átalakulási folyamataihoz szükséges hőmérsékletet szakaszos hőmérsékletemeléssel állítjuk be. Ilyen forrás a grafitkemence.



2.1.7.2. ábra. Az atomspektroszkópiai módszerek és az ICP-MS-módszer folyamatai

Az atomspektroszkópai módszerek és ICP-MS-módszerek fontosabb folyamatait a kapcsolt források példáján mutatjuk be a 2.1.7.2. ábrán. Az ábra segítségével szemléltetjük azt, hogy a jel kialakulásában milyen egymást követő, illetve egyidejű fizikai, kémiai és spektroszkópia folyamatok játszódnak le. Ezek a módszerek nagyon összetett folyamatsor eredményeként szolgáltatják az analitikai jelet. Az egyes részfolyamatok egy-egy tényezőt reprezentálnak adott módszer analitikai összefüggésében, de a kalibrálás során összevont állandóban jelennek meg.

A módszerválasztás, a módszerkidolgozás és a módszerellenőrzés során egy-egy nehezebb analitikai feladat megoldásában sokat segít, ha ismerjük az egyes részfolyamatok várható alakulását.

Az ábrán felülről lefelé haladva nyomon követhetjük az oldatmintában (*o*) jelenlévő MX összetételű vegyületet (M = fémion, X = anion) átalakulását. Az első lépésben az állandó sebességgel áramló mintát a porlasztással (heterodiszperz) nedves aeroszollá alakítjuk. Az aeroszolt porlasztókamrán átvezetve az ülepedés és az impakció (ütköztetéses leválasztás) segítségével a nagyobb átmérőjű folyadékcseppeket eltávolítjuk és csak 10 μm -nél kisebb átmérőjű cseppeket juttatjuk be a plazmába vagy lángba. A láng-AAS-módszernél a porlasztókamrában történik az éghető gáz bekeverése is, a plazma módszereknél argongáz szállítja az aeroszolt.

A gázban diszpergált oldatcseppekkel bevitt anyag hőmérséklete fokozatosan növekszik. A nagy hőmérsékletű áramló közegben a pillanatnyi hőmérsékletnek megfelelő átalakulások játszódnak le. Az oldószer elpárolgása, szilárdfázis kialakulása $MX(s)$, szilárd- és olvadásfázisú átalakulások, az anyag párolgása vagy szublimációja vezet a gázfázisú állapot eléréséhez $MX(g)$. A folyamatok egyensúlya és sebessége függ az anyag és a mátrix tulajdonságaitól, a közeg hőmérsékletétől, az oxigénkoncentrációtól stb. A szabadatomok $M(g)$ fémvegyületek, első sorban a termikusan legstabilabb monoxidok termikus disszociációjával keletkeznek.

A szabadatomok egyrészt egyensúlyban vannak különböző – az adott közegben stabil molekulákkal MO (monoxid), MOH (monohidroxid), MX (monohalogenid) – másrészt a termikus ionizáció során elektron leadással keletkező ionokkal M^+ . Ha az egyensúlyokat befolyásoló főbb paraméterek, a hőmérséklet, az elektronkoncentráció, az oxigénkoncentráció, a gyökkoncentrációk állandók, akkor az egyes formák koncentrációarányai is állandók. Ez azt jelenti, hogy bármelyik forma koncentrációjának meghatározásával következtethetünk az összes mennyiségre, illetve az oldatban lévő koncentrációra. Ha az egyes formák részaránya mintáról mintára változik (pl. a mátrixösszetétel változása miatt) az analitikai hibát okozhat (pl. ionizációs zavarás).

Az optikai spektroszkópai módszerek az elektrongerjesztést használják ki a szabadatom, szabadion, illetve molekula koncentrációjának meghatározására. Az atomabszorpciós módszerek az M szabadatom koncentrációt mérik úgy, hogy a meghatározandó elem rezonancia vonalának I_0 sugárzását vezetik át a szabadatomfelhőn. A sugárzás gerjeszti a szabadatomot és elnyelődik, ezért a sugárzás intenzitása I_0 -ról I -re csökken. Az abszorbancia ($A = -\lg I/I_0 = kc_{atom}$) arányos a szabadatom-koncentrációval.

Az emissziós módszerek a szabadatomok, -ionok vagy molekulák termikus elektrongerjesztését követő spontán fotonemisszióval szolgáltatják az optikai sugárzást. A szabadatomok és -ionok kis félértékisélességű (3–20 pm) vonalából álló emissziós spektrumot szolgáltatnak, a gerjesztett molekulák viszont, sok közeli vonalból álló, sávós emissziós spektrummal jellemezhetőek.

Az induktívesatolású plazmát az ICP-MS-készülékekben külső ionforrásként használjuk. Az argon-argon plazmában a fémek és átmeneti elemek 90%-ot meghaladó mértékben ionizálódnak, ezért az ICP viszonylag jó hatásfokú, atmoszférikus nyomáson működő ionforrás. A plazmából csatoló egységen keresztül visszük be az ionokat kis felbontású vagy nagy felbontású tömegspektrométerbe, ahol megtörténik az elemek (izotópok) azonosítása és mennyiségi meghatározása. Az egyes részfolyamatok részletesebb tárgyalására a következő fejezetekben kerül sor.

Mintabevitel áramló közegű sugárforrásokba, atomforrásokba és ionforrásokba

A lángsugárforrás, a lángatomforrás és az induktívesatolású plazma sugárforrás és ionforrás közös jellemzője, hogy a nagy hőmérsékletű teret áramló gázból, gázokból állítjuk elő. Mindkét forrás nagy

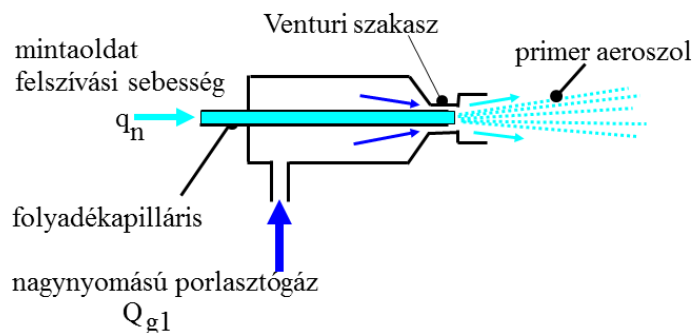
sebességgel áramló, nagy hőmérsékletű gázokból álló, nyitott gázugár, amely a környező álló gáztér hatására fokozatosan lehűl. Ezekbe a forrásokba az alkalmazások többségében porlasztásos módszerrel visszük be a folyadék halmazállapotú oldatmintát. A porlasztás során az egyik gázban, lángoknál a nagyobb térfogati sebességű, égést tápláló gázban, ICP-nél az argongáz egyik részáramában diszpergáljuk az oldatmintát és a keletkező, apró oldatcseppekből álló, finomeloszlású aeroszolt így módon a forrásba juttatjuk. A kicsi ($< 10 \mu\text{m}$) cseppméret fontos az aeroszol stabilitása miatt, és azért is, hogy a forrásban biztosítsuk a fizikai és kémiai átalakulások megfelelően nagy sebességét. A forrásban állandó sebességű mintabevitelrel tudunk a minta koncentrációjával arányos, stacioner koncentrációt, stacioner jelet elérni. Az esetek többségében a technikailag viszonylag egyszerűbb, pneumatikus porlasztókat használjuk. Az ultrahangos porlasztót csak az ICP készülékben alkalmazzuk egyes speciális feladatok megoldására.

A porlasztás energiabefektetést igénylő folyamat. Az energiát pneumatikus porlasztás esetén a közel hangsebességgel áramló gázugár biztosítja, ultrahangos porlasztásnál pedig a nagy frekvenciával rezegtetett felület. A porlasztókat kétféle módon csatolhatjuk a forrashoz: (1) **direkt porlasztónak** nevezzük azt a konstrukciót, ahol a pneumatikus porlasztó által előállított ún. **primer aeroszolt** közvetlenül a forrás nagy hőmérsékletű terébe juttatjuk, (2) az **indirekt porlasztónál** a porlasztó által előállított primer aeroszolt egy keverést és nagy cseppek leválasztását megvalósító porlasztókamrán vezetjük át és csak a kamrát elhagyó **szekunder aeroszolt** juttatjuk a forrásba.

A láng és ICP-forrásokhoz eltérő porlasztó konstrukciókat alkalmazunk. Az eltérés elsősorban abból ered, hogy a lángoknál általában $8\text{--}10 \text{ l/min}$ térfogati sebességű gáz végzi a porlasztást, míg az ICP-nél csak $0,6\text{--}1,2 \text{ l/min}$ lehet porlasztógáz térfogati sebessége. A porlasztógáz kisebb térfogati sebessége miatt az ICP-porlasztóknál a megfelelő lineáris gázsebesség eléréséhez sokkal kisebb geometriai méretek szükségesek.

Az atomabszorpciós készülékben használt porlasztótípus felépítése a 2.1.7.4. ábra felső részén látható. A folyadékkapilláris külső átmérője kb. $0,8 \text{ mm}$, belső átmérője kb. $0,4 \text{ mm}$. A folyadékkapilláris vége a gázkapillárisban helyezkedik el és egy ún. Venturi szakaszt formál. A porlasztógáz a Venturi szakaszban közel hangsebességet ér el és kb. $0,5 \text{ bar}$ vákuumot hoz létre a folyadékkapilláris végén. Az atmoszférikusnál kisebb nyomás (vákuum) hatására a porlasztó állandó, q_n sebességgel szívja, áramoltatja a mintaoldatot (felszívási sebesség). A kapilláris végén kilépő folyadék találkozik a nagy sebességű gázzal, amely a folyadéksugarat cseppekre bontja, porlasztja, kialakítja a primer aeroszolt. A porlasztást segítik az itt kialakuló nyomáshullámok is.

(a) pneumatikus porlasztó

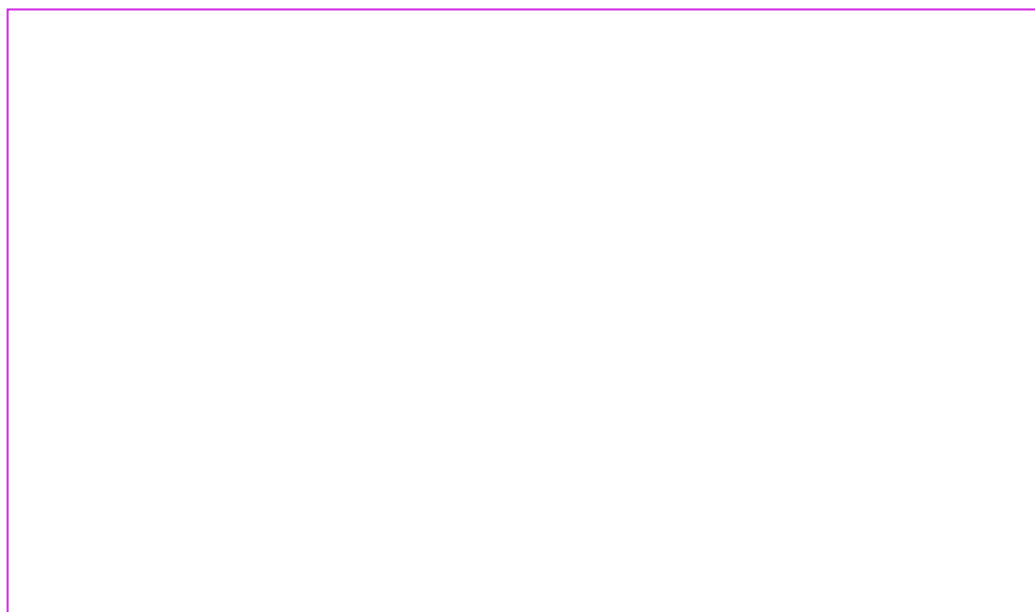


(b) aeroszol kialakulása a folyadéksugárból



2.1.7.3. ábra. A koncentrikus, pneumatikus porlasztó felépítése, az aeroszol kialakulásának fázisai

VIDEÓ



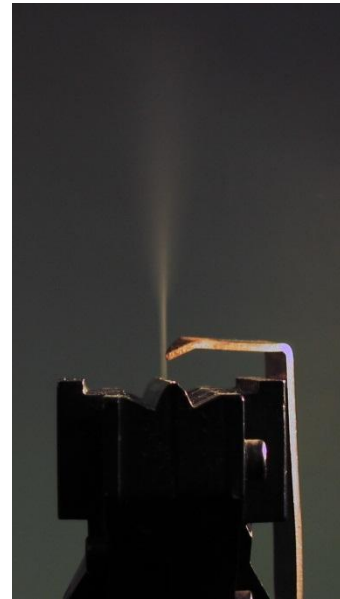
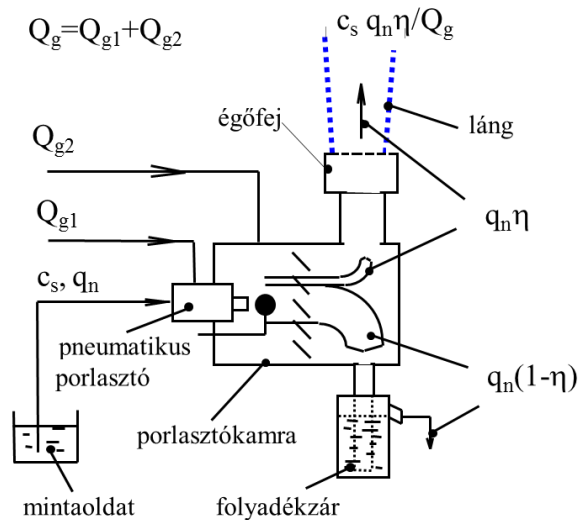
2.1.7.1. videó: Pneumatikus porlasztó működése

Egy atomabszorpciós készülék porlasztóját és a porlasztó által előállított primer aeroszol képét a 2.1.7.4. ábra mutatja.



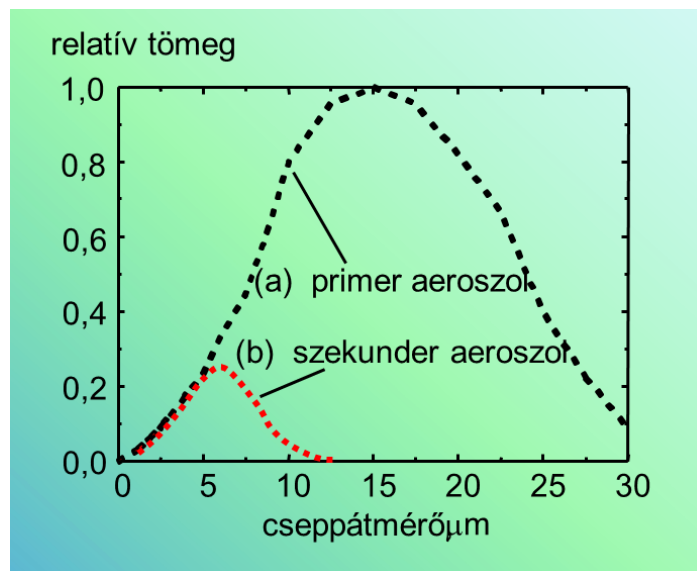
2.1.7.4. ábra. Atomabszorpciós készülék porlasztója és primer aeroszol

A pneumatikus porlasztás fontosabb folyamatait a lángatomabszorpciós készülékekben alkalmazott indirekt porlasztó egységen szemléltetjük (2.1.7.5. ábra). A porlasztó a porlasztókamrába illeszkedik.



2.1.7.5. ábra. A láng-AAS-készülék indirekt porlasztó egységének elvi felépítése. Az égőfejen kilépő aeroszol fényképe

A porlasztókamra fő feladata: (i) a primer aeroszol cseppméreteloszlásának módosítása, és (ii) a kevert gázzal működő rendszerekben a gázok és a minta-aeroszol keverése, homogenizálása. A porlasztókamrában a nagyobb folyadékcspepek leválasztása ülepedéssel és ütközéssel (impakció) történik, amit segít a kamrában elhelyezett keverő, ütköző felület is. A porlasztókamra „kiszűri” a 10 μm -nél nagyobb cspepeket. A cseppméreteloszlás változását a 2.1.7.6. ábra szemlélteti.

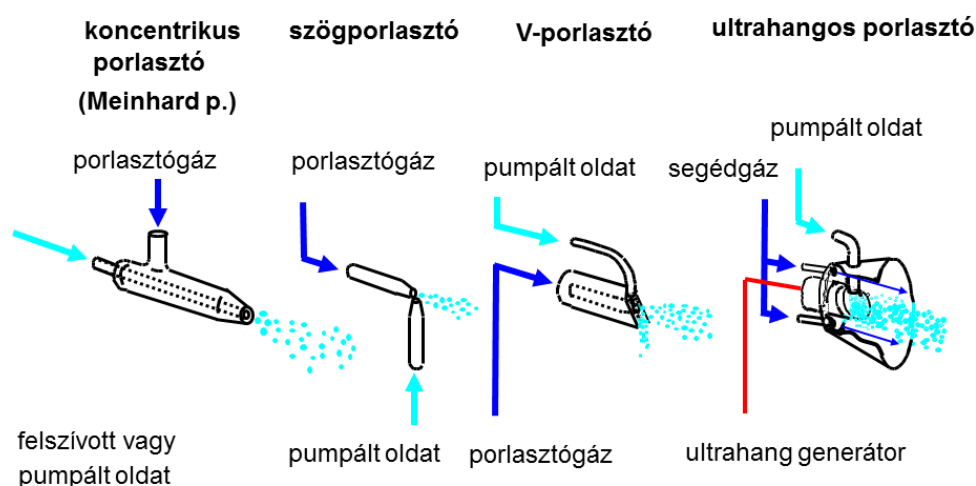


2.1.7.6. ábra. Az aeroszol cseppméreteloszlásának változása a porlasztókamrában

A forrásba belépő mintaáramot a teljes mintaáramhoz viszonyítva kapjuk a közvetett porlasztás hatásfokát (η). A hatásfokkal és a felszívási sebességgel kifejezhetjük a forrásba bejutó anyagáramot $\{q_n \eta\}$, a leválasztott anyagáramot $\{q_n (1-\eta)\}$, illetve a forrásba bejutó aeroszol komponens koncentrációját is $c_s q_n \eta / Q_g$ (analittömeg/gáztérfogat).

A láng-AAS-porlasztók 2–5 ml/min felszívási sebességgel és kb. 10% ($\eta = 0,1$) hatásfokkal jellemezhetők. A primer aeroszol cseppméreteloszlását a kisebb méretek felé tudjuk eltolni és így javítani tudjuk a porlasztás hatásfokát, ha a porlasztóhoz közel, 3–5 mm-re ütközőgömböt helyezünk a még nagy sebességgel áramló aeroszol útjába.

Az induktív csatolású plazma fontosabb porlasztótípusai (2.1.7.7. ábra): (1) a koncentrikus porlasztó vagy Meinhard porlasztó, (2) a szögporlasztó, (3) a V-porlasztó és (4) az ultrahangos porlasztó. Az üvegből készített koncentrikus porlasztó felépítésében azonos a 2.1.7.3. ábrán bemutatott porlasztóval, de a geometriai méretek itt lényegesen kisebbek, hogy 1 l/min gázsebességnél kb. 200–300 m/s lineáris gázsebességet érjünk el a Venturi szakaszban. A kis kapillárisméretek miatt a folyadék- és gázoldalon is nagy az eltömődés veszélye. A szögporlasztóban kedvező, hogy a folyadékkapilláris mérete valamivel nagyobb lehet. A V-porlasztó a gázkapilláris végén kialakított ferde V-alakú csatornáról kapta a nevét. Ebbe a csatornába felül illeszkedik a folyadékkapilláris, melybe perisztaltikus pumpával szállított mintaoldatot táplálunk. A lecsorgó folyadékfilm egy része a nagy sebességű gázszárral érintkezve aeroszollá alakul. Az ultrahangos porlasztóban piezoelektromos ultrahangforrás felületére tápláljuk rá a mintaoldatot és az ultrahang frekvenciájú mechanikus rezgés hozza létre a nagyon kis cseppméretű aeroszolt. A képződött cseppeket argon segédgázzal szállítjuk a forrásba.



2.1.7.7. ábra. Az induktív csatolású plazma sugárforráshoz gyakran alkalmazott porlasztók

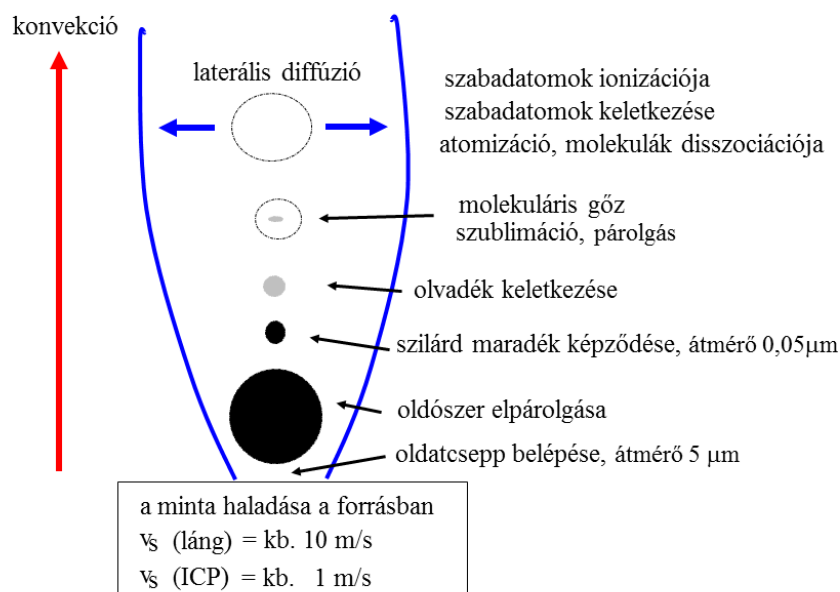
A különböző ICP-porlasztókkal eltérő hatásfokot érünk el: koncentrikus porlasztó 1–2%, szögporlasztó 0,8–1,5%, V-porlasztó 0,7–1%, ultrahangos porlasztó 10–20%. A porlasztó kiválasztásánál a hatásfok mellett sok más tényezőt is számításba veszünk: sókoncentráció, szilárd szennyezések stb., a különböző feladatokhoz más-más porlasztókat használhatunk.

Az ultrahangos porlasztó csak egy szárító egység beiktatásával csatlakozhat az ICP-hez.

2.1.8. A sugárforrásokban és atomforrásokban lejátszódó fizikai, kémiai és spektroszkópiai folyamatok

Az atomforrások, sugárforrások és ionforrások egyik nagyon fontos csoportja az áramló közegű források. Ezekben a forrásokban a porlasztással előállított mintacseppek együtt mozognak a nagy sebességgel áramló gázokkal és közben a nagy hőmérsékletű közeg hatására termikus folyamatok sorozata játszódik le (2.1.8.1. ábra): (i) **elpárolg az oldószert**, több komponensű oldatok esetén a szilárd fázis kialakulásában a vegyületek oldhatóságnak van szerepe; (ii) **a szilárd részecske megolvad**, olvadásfázisú átalakulások, reakciók játszódhatnak le; (iii) **a részecske elpárolg**, a komponensek gőzfázisba mennek át; (iv) a molekulák atomokra disszociálnak, atomizálódnak, a atomos gőz keletkezik; (v) a

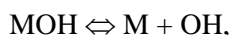
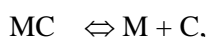
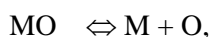
szabadatomok részlegesen termikusan ionizálódnak; (vii) a gőz fázisú komponensek diffúzióval terjednek a forráson belül és a nyitott forrást körülvevő térben.



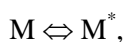
2.1.8.1. ábra. A minta atomizációja áramló közegű forrásokban

A források nagy hőmérsékletén a molekulák, különösen a nagyobb molekulák nem stabilak, lebomlanak egyszerűbb molekulákra, illetve alkotórészeikre disszociálnak. A forrásokban termikus egyensúly, illetve lokális termikus egyensúly feltételezhető, ezért a folyamatokat az ismert termodinamikai összefüggésekkel jellemezhetjük.

A nagy hőmérsékletű forrásokban a disszociációs folyamat utolsó, viszonylag stabil molekulái a monoxidok, MO; monohidroxidok MOH; karbidok MC, illetve halogenidok MX termikus disszociációja szolgáltatja a szabadatomokat. A disszociációs egyensúlyokat az alábbi reakció-egyenletek jellemzik:



A keletkezett szabadatomok gerjesztődnek és ionizálódnak a forrásban. A gerjesztett állapot általában nagyon rövid ideig (kb. 10^{-8} s) marad fenn, majd ütközéssel vagy fotonemisszióval alapállapotba kerül az atom.



A termikus ionizáció során megfordítható, egyensúlyi folyamatban pozitív töltésű ionok és elektronok keletkeznek. A kellően nagy hőmérsékletű forrásokban az egyszeres pozitív töltésű ionokból további elektronvesztéssel többszörösen ionizált ionok is keletkezhetnek:



Egy adott elem tehát szabadatom (M), különböző molekulák (MO, MC, MOH, MX) és ionok (M^+ , M^{++}) formájában található a forrás adott zónájában. Az adott elemre az összes részecske koncentráció

n , azaz a szabad részecskék száma térfogategységenként, tehát az atom, n_a , a molekulák, n_m , és az ionok, n_i koncentrációjának összegeként írható fel:

$$n = n_m + n_a + n_i .$$

A vizsgálatok során feltételezzük, hogy a szilárd- vagy oldatminta c_s komponens koncentrációja arányos a forrásban kialakuló n összes koncentrációval ($c_s \propto n$). Az adott vizsgálat spektroszkópiái információja azonban csak egy kiválasztott részecskeformától származik, azaz a $c_s \propto n_a$ vagy $c_s \propto n_m$ vagy a $c_s \propto n_i$ arányosságra alapozzuk a mennyiségi meghatározást, ami megkívánja, hogy a n_a/n , n_m/n , illetve n_i/n viszonyszámok is állandóak legyenek az adott elemzés során. Ez azt jelenti, hogy a részecskék megoszlása az egyes formák között nem különbözhet a kalibrálás és a mintaelemzés fázisaiban. Az arányok eltolódására akkor kell számítanunk, ha a disszociáció és ionizáció foka megváltozik a mátrixkomponensek hatására.

A molekulák termikus disszociációját, azaz a termikus szabadatom képződést leíró összefüggést a MO monoxidok disszociációjára adjuk meg, de analóg módon írható fel a többi molekulára is:

$$\frac{n_a}{n_m} = \frac{1}{n_o} k_d T^{3/2} e^{-\frac{E_d}{kT}} ,$$

ahol n_o , az oxigénkoncentráció,
 k_d , összevont állandó,
 T az abszolút hőmérséklet,
 E_d az adott monoxid disszociációs energiája és
 k a Boltzmann állandó.

Az összefüggésből látható, hogy a disszociáció növelhető, ha a hőmérsékletet növeljük és a forrás oxigénkoncentrációját csökkentjük.

A szabadatomok ionizációs egyensúlyának mennyiségi leírása (egyszeres ionizációra) hasonló összefüggéssel az ún. **Saha-egyenlettel** adható meg:

$$\frac{n_i}{n_a} = \frac{1}{n_e} k_i T^{3/2} e^{-\frac{E_i}{kT}} ,$$

ahol n_e az elektronkoncentráció,
 k_i összevont állandó és
 E_i az adott atom ionizációs energiája.

Az ionizáció foka tehát függ a hőmérséklettől, az adott elem ionizációs energiájától és az elektronkoncentrációtól.

A szabadatomok képződésének fontosabb részfolyamatai; (1) porlasztásos mintabevitel, (2) párolgás, és (3) atomizálás sok esetben nem játszódnak le 100%-os hatásfokkal. Az adott beállítást hatásfok tényezőkkel jellemezzük. Így használjuk a már korábban értelmezett **porlasztási hatásfokot** (η), **párolgási hatásfokot** (α), az **atomizáció hatásfokát** ($\beta = n_a/n$) és az **ionizáció fokot** ($\gamma = n_i/n$).

A folyamatokban kulcsszerepet játszik a hőmérséklet, az oxigénkoncentráció és az elektronkoncentráció, de fontos szerepe van az egyes részfolyamatok sebességének, a konvektív és diffúziós transzportsebességnek (a tartózkodási időnek) is. Egyes esetekben szükség lehet pl. a forrás elektronkoncentrációjának jelentős növelésére a mintához adagolt, az adott körülmények között jelentős mértékben ionizálódó fém ún. **ionizációs puffer** (Cs^+ , K^+ , Ba^{2+} stb.) segítségével, hogy elkerüljük a mintában változó koncentrációban előforduló könnyen ionizálódó fémek zavaró hatását.

Gerjesztés, a színekvonalak intenzitása, fotonabszorpció

A g szintre gerjesztett atomok és az összes szabadatom részarányát n_g/n_o a Boltzmann összefüggés írja le:

$$\frac{n_q}{n_a} = \frac{g_q}{\sum g_a} e^{-\frac{E_q}{kT}},$$

ahol g_q a magasabb energiaszint statisztikus súlya,
 $\sum g_a$ az alapszintek statisztikus súlyának összege,
 E_q az alap- és gerjesztett állapot közötti energiakülönbség,
 k a Boltzmann-állandó.

Az egyenlet szerint a n_q/n_a arány, azaz a q szint populációja exponenciálisan növekszik a hőmérséklettel, de mivel az n_a/n arány is maximum görbe szerint változik, az n_q/n arány is maximumot mutat a hőmérséklet függvényében. Az optimális gerjesztési hőmérséklet általában kevéssel az optimális atomizációs hőmérséklet fölött van. A maximális gerjesztési fok n_q/n a legtöbb elemnél 10^{-3} – 10^{-4} tartományba esik $\{n_q = (10^{-3}-10^{-4})n\}$.

Emissziós méréseknél a színekvonal intenzitása I arányos a megfelelő $q \rightarrow p$ átmenet (q a magasabb, p az alacsonyabb energiaszint) valószínűségével (A_{qp}), a fényforrás egységnyi térfogatában lévő gerjesztett atomok számával (n_q) és a fényforrás hosszával az észlelés irányában (l):

$$I = k_E A_{qp} n_q l,$$

ahol k_E a fénymérést jellemző állandó.

Ezt a tényezőt az analitikai méréseknél állandó értéken tartjuk (térzőg, erősítés stb.) és az intenzitást relatív mennyiségként mérjük.

Atomabszorpciós méréseknél ha az abszorpciós vonalszélességnél kisebb szélességű vonalat emittáló fényforrással végezzük az abszorpció mérést, a fotonabszorpcióval előidézett $p \rightarrow q$ átmenethez tartozó abszorbancia A az alábbi módon fejezhető ki:

$$A = k_A B_{pq} n_p l,$$

ahol k_A összevont állandó,
 B_{pq} az abszorpciós átmeneti valószínűség,
 n_p az alacsonyabb szinten lévő atomok száma és
 l az abszorpciós úthossz.

Az esetek jelentős részében az n_p megegyezik a szabad atomkoncentrációval.

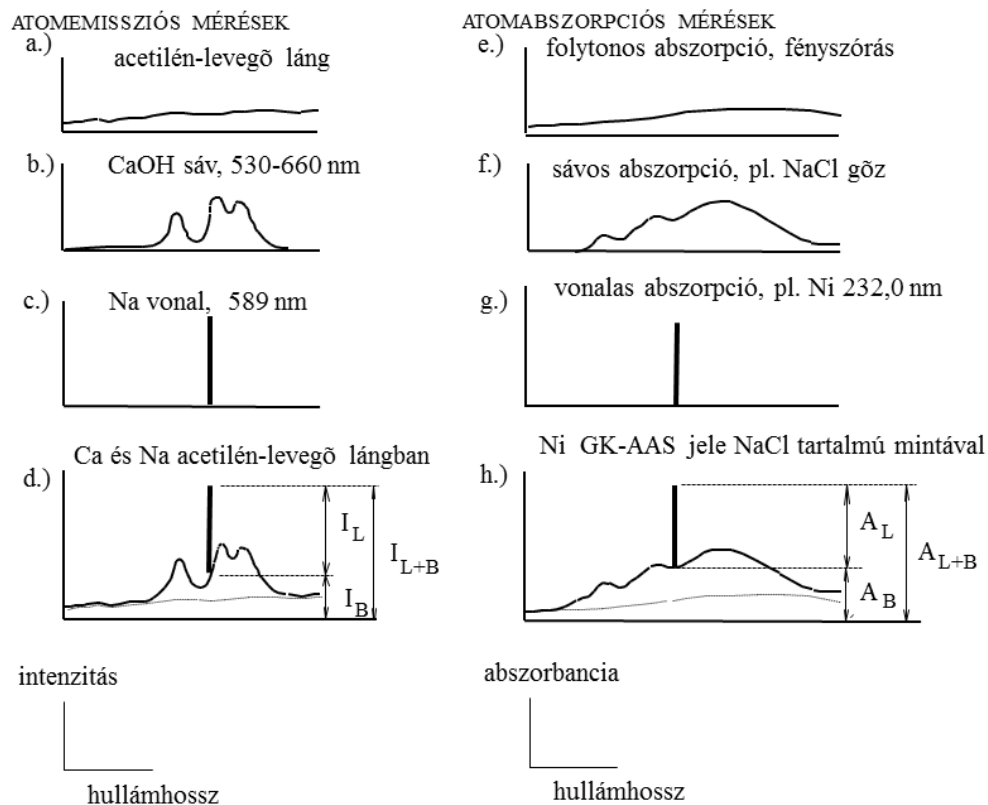
2.1.9. Hátér és hátérkorrekció atomemissziós és atomabszorpciós méréseknél

A sugárforrásokban és atomforrásokban a különböző spektroszkópai jelenségek: emisszió, abszorpció, fényszórás; a különböző spektrumtípusok: folytonos, sávos és vonalas emisszió és abszorpció egymásra szuperponálódnak, azaz a hasznos „vonalas” jelet az ún. háttéremisszióval, illetve háttérabszorpcióval együtt detektáljuk (lásd 2.1.9.1. ábra). A probléma tanulmányozásához az emissziós vagy abszorpciós spektrumot kell tanulmányoznunk a spektrumvonal környezetében. Az emissziós mérések esetén az intenzitás-hullámhossz, míg az abszorpciós mérések esetén az abszorbancia-hullámhossz spektrumokat célszerű ábrázolni.

Az emissziós módszereknél a sugárforrás saját folytonos emissziója, a termikusan stabil molekuláktól származó sávos emisszió és a szabadatomoktól, szabadionoktól származó vonalas emisszió adódik össze és adja az eredő spektrumot. Az ábra bal oldalán kalciumtartalmú mintaoldat nátriumtartalmának lángemissziós módszerrel történő meghatározásának példáján szemléltetjük a sugárforrás saját emissziójából, a kalcium mátrixelemtől származó CaOH molekulásávos emissziójából és a nátrium szabadatom vonalas emissziójából keletkező eredő spektrumot. A nátriumkoncentrációjával arányos I_L vonalintenzitást az I_{L+B} összes intenzitás és az I_B háttérintenzitás mérését követően tudjuk számítással meghatározni. Ezt a műveletet **hátérkorrekciónak** nevezzük, amely történhet a vonallal azonos

hullámhosszon, vagy a vonalhoz közeli hullámhossznál végzett háttérméréssel. A vonal mellett mért intenzitásokból interpolációval közelítjük a vonal hullámhosszára vonatkozó háttérvértéket.

Az atomabszorpciós méréseknél (2.1.9.1. ábra, jobb oldal) formailag hasonló a probléma, de itt a különböző fényelnyelést okozó spektroszkópai jelenségek állnak a háttérben. Az abszorpció is tartalmazhat folytonos abszorpciót, fényszórást, pl. szilárd részecskék fényszórása, illetve molekuláris gőzöktől származó sávos abszorpciót ($\text{NaCl}_{\text{gőz}}$), amire szuperponálódik a szabadatomok abszorpciója, amely vonalas jellegű. Az A_L abszorbanciát az összes abszorbancia A_{L+B} és háttérabszorbancia A_B mérését követően tudjuk számítani. A vonalas fényforrással működtetett AAS-készülékekben az ún. deutériumlámpás háttérkorrekciót, illetve a **Zeeman**-háttérkorrekciót alkalmazzuk, amelyek a háttérabszorbancia mérését valósítják meg eltérő módon. A folytonos fényforrással működő AAS-készülék az ábrán megfelelő formában jeleníti meg az abszorpciós spektrumot és lehetőséget ad a vonal melletti háttérvértékek közvetlen felhasználására a háttérkorrekcióhoz.



2.1.9.1. ábra. A háttér értelmezése és háttérkorrekció az atomemissziós és az atomabszorpciós méréseknél

2.2. LÁNGEMISSZIÓS MÓDSZER, LÁNGFOTOMETRIA

2.2.1. A módszer bemutatása

A lángsugárforrásra alapozott optikai emissziós módszert (F-OES) gyakran lángfotometriás, illetve lángemissziós spektrometriás módszerként emlegetjük. A módszer alkalmazási köre az alkalmazott láng hőmérsékletétől függ. Levegő-propán lángban csak az alkálifémeket, acetilén-levegő lángban az alkáli és alkáliföldfémeket, N_2O -acetilén lángban a fémek kb. 70%-t tudjuk meghatározni. A meghatározásokat általában atomvonalakon végezzük, de történhetnek a lángban stabil, kis gerjesztési energiájú molekulasávokon is (CaOH, SrOH, BaOH stb.).

A lángemissziós meghatározásokat végezhetjük viszonylag egyszerű interferenciaszűrős láng-OES-készülékkel vagy ennek többsatornás változatával, de nagyon gyakran az atomabszorpciós készüléket használjuk lángemissziós üzemmódban.

A láng-OES-készülékek alkalmazása az utóbbi években az atomabszorpciós módszerek elterjedésével párhuzamosan visszaszorult. A lángemissziós mérés kimutatási határai a könnyen gerjeszthető alkálifémek esetén kedvezőbbek, mint a láng-AAS-módszeré. A többi elemnél a láng-AAS módszer a kedvezőbb. Összetett minták elemzésekor problémát okoz, hogy a készülékekben a lángemissziós mérésre általában nem megoldott a vonal melletti háttérkorrekció, ami komoly műszeres hibát okozhat.

A lángemissziós módszer kalibrációs függvénye lineáris ($I = k c$), de az atomvonalokon, nagyobb koncentrációtartományban végzett méréseknél a görbe lehajló jellegű. A jelenség oka az önabszorpció, amit a vizsgált elem láng környezetében megjelenő szabadatomjainak fényelnyelése okoz. Molekulasávokon az önabszorpció nem lép fel. A láng-OES-módszert mintabeviteli, párolgási és ionizációs mátrixzavarások is terhelhetik. Ezeket a láng-AAS-módszernél tárgyaljuk.

2.3. SZIKRASPEKTROMETRIA

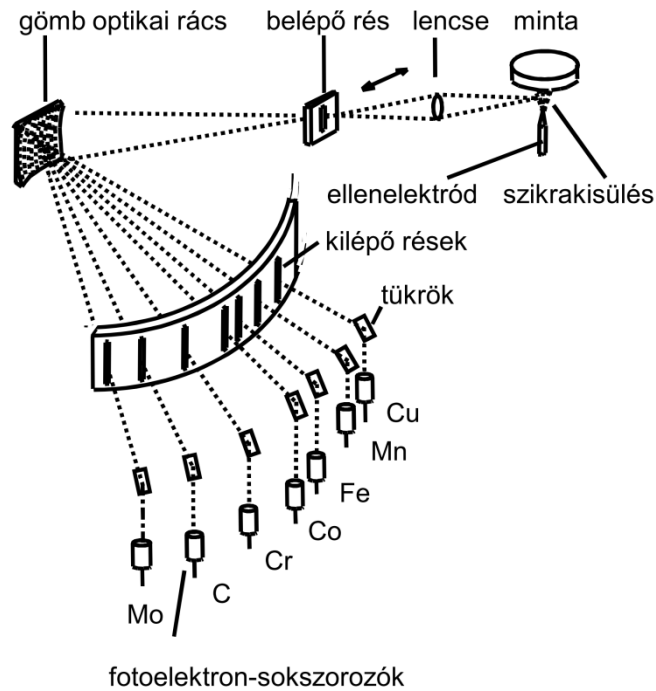
2.3.1. A módszer bemutatása

Az egyenáramú ív sugárforrásra és a nagyfeszültségű szikra sugárforrásra alapozott analitikai módszerek nagyon hosszú múltra tekintenek vissza. A **spektrográfia** körébe soroljuk azokat az emissziós szinképelemzési módszereket, amelyekben az analitikai sugárforrás spektrográffal felbontott fényét, az emissziós spektrumot, fotolemezen rögzítjük és előhívás után szinképvetítő, illetve vonalfotométer segítségével dolgozzuk fel. A **spektrometriás** módszerek esetében a spektrumból kiválasztott részt (vonal, sáv) fotoelektromos detektorokkal (fotoelektron-sokszorozó, CCD-detektor) észleljük.

A spektrográfia (egyenáramú ívgerjesztés) minőségi analitikai alkalmazása 1910-ben kezdődött, a mennyiségi analitikai alkalmazást 1925-ben dolgozták ki a belső standard módszer bevezetésével. A nagyfeszültségű szikra sugárforrást 1932-ben vezették be, míg a sokcsatornás szikraspektrométerek 1940-ben jelentek meg a laboratóriumokban. Az 1970-es évektől kezdődően a nehézkes fotolemezes detektálás miatt a spektrográfias módszerek fokozatosan eltűntek.

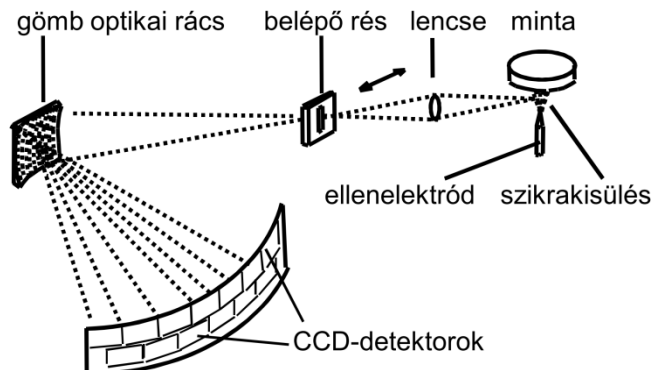
Megmaradtak viszont és technikailag jelentősen tovább fejlődtek a szikraspektrometriás készülékek, melyeket fémek közvetlen szilárd mintás, szimultán multielemes elemzésére használnak kohászati gyártók, fémalapanyag-felhasználók és -forgalmazók, illetve hulladékhasznosítók. Ezzel a módszerrel elsősorban az acél, vas, alumínium, réz, nikkel, kobalt, titán, cirkónium, magnézium, cink és nemesfém ötvözetek összetételét lehet meghatározni. Egy-egy anyagtípus, pl. acél elemzése során 20–25 elem meghatározása is szükséges lehet, ha több anyagtípus elemzésére van szükség, 40–50 mérőcsatornát is beépítenek a készülékbe, mert egy-egy elemnek több vonalát is használni kell. A módszerrel kedvező esetben 0,5–2% szórás érhető el. A készülékek kalibrálásához az adott fémötvözet kalibráló mintasorozatát kell használni. Egy-egy minta elemzése néhány percet vesz igénybe. Az eredmények feldolgozását, a minta besorolását számítógépes adatbázisok támogatják.

A különböző alkalmazásokhoz eétező készüléktípusokat használnak. A legigényesebb kohászati elemzésekhez Pashen-Runge rendszerű (fókusz távolság 0,5–1 m) vákuum polikromátoros készülékeket használnak fotoelektron-sokszorozó detektorokkal kombinálva, hogy a szén-, kén- és foszforatomok érzékeny, 160–200 nm tartományba eső vonalait is használhassák. Egy ilyen készülék elvi felépítését mutatja a 2.3.1.1. ábra. A síkra lemunkált minta elemzendő felületét a szikrasugárforrás fémasztalának nyílására helyezik az ellenelektrod fölé. A szikrakisülés képét a leképező rendszer a belépő résen keresztül a gömb optikai rácstra vetíti, amely a kilépő rések síkjában megjeleníti a spektrumot. A spektrumból a kilépő résekkel választjuk ki az egyes elemek spektrumvonalait. A kilépő réseken áthaladó fényt fotoelektron-sokszorozó detektorokra vetítjük. A vonalak melletti háttérintenzitások mérését a belépő rés mozgásával valósítjuk meg.



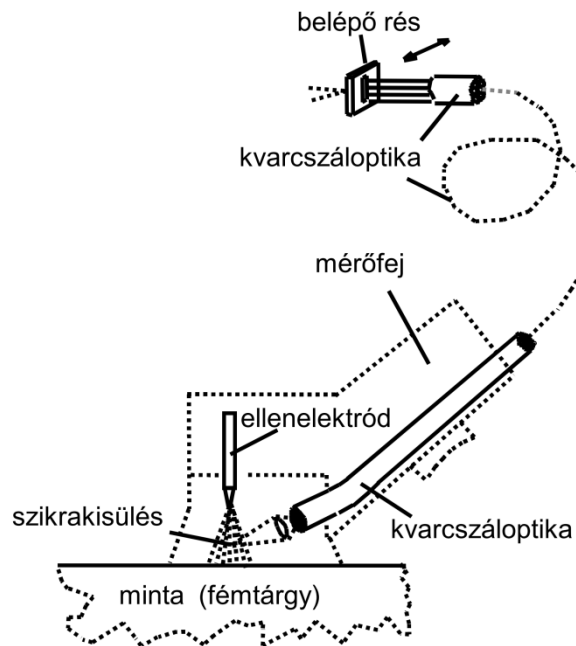
2.3.1.1. ábra. Paschen–Runge rendszerű polikromátoros szikraspektrométer fotoelektron-sokszorozó detektor

Az egyszerűbb anyagminősítési feladatokhoz a kisebb méretű asztali készülékek is megfelelnek, ezekben a kisebb fókusztávolságú polikromátorhoz két sorban CCD-detektorsorokat (pl. 1024×64 pixel, 14×14 μm pixelméret) illesztnek, így a teljes hasznos spektrumtartomány elérhető (2.3.1.2. ábra).



2.3.1.2. ábra. Paschen–Runge rendszerű polikromátoros szikraspektrométer CCD-detektor sorokkal

Anyagválogatáshoz és helyszíni vizsgálatokhoz készítenek hordozható szikraspektrométereket is. Ezekben a szikrasugárforrást száloptikán keresztül csatolják a központi egységben elhelyezett CCD-detektoros polikromátorhoz (2.3.1.3. ábra). Az elemzéshez a kézi mérőfejet ráfektetik a vizsgálandó fémtárgyra, majd beindítják az elemzési ciklust. Az ellenelektród és a tárgy között létrehozott szikrakisülés optikai sugárzását 2–3 méter hosszú kvarcszáloptikára vetítik. A száloptika másik végét a polikromátor belépő részéhez illesztik.



2.3.1.3. ábra. A szikrasugárforrás optikai csatolása mobil szikraspektrométerben

2.4. INDUKTÍV CSATOLÁSÚ PLAZMA OPTIKAI EMISSZIÓS MÓDSZER (ICP-OES)

2.4.1. A módszer bemutatása

Az inductív csatolású plazma optikai atomemissziós (ICP-OES) módszer az inductív csatolású plazmát (ICP) használja sugárforrásként. Ez módszer 1979-ben jelent meg a laboratóriumokban. A mai modern készülékekkel technikailag teljes mértékben kihasználhatjuk a módszer kínálta analitikai lehetőségeket.

A módszer 70–80 féle elem kimutatását (2.4.1.1. táblázat), illetve mennyiségi meghatározását teszi lehetővé. A mintaoldatot porlasztással aeroszollá alakítva, gázárammal juttatjuk az inductív csatolású plazmába, ahol a minta komponensei elpárolognak, atomizálódnak, a keletkező szabadatomok, illetve -ionok gerjesztődnek és az elemekre jellemző hullámhosszú fotonokat bocsátanak ki. A plazma fényemisszióját polikromátorral spektrálisan felbontjuk és az egyes elemek adott hullámhosszú spektrumvonalának intenzitását optikai detektor(ok) segítségével mérjük.

1a	2a	3b	4b	5b	6b	7b	8	8	8	1b	2b	3a	4a	5a	6a	7a	0
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac															
Lantanidák	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu			
Aktinidák	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lw			

2.4.1.1. táblázat. Az ICP-OES-módszerrel mérhető elemek

Az ICP-OES-módszer előnyei

- ICP-sugárforrás és atomemissziós elv alkalmazásával a gyakorlatban 70–80 féle elem vizsgálható, vonalas jellegű spektrumok, 5–20 pm szélességű spektrumvonalainak felhasználásával;
- a spektrumok az atomok elektronszerkezetének „leképezései” ezért egy adott elem spektrumvonalai pontosan azonos hullámhossznál jelennek meg;
- a különböző elemek vonalai egyszerre jelennek meg, az elemek egyidejűleg is mérhetőek, szimultán multielemes módszer;
- az elemek kimutatási határai kedvezőek, nyomelemzésre is alkalmas;
- 5–6 nagyságrendet felölelő dinamikus koncentrációtartomány, nyomelem, mellékalkotó és főalkotó egyszerre elemezhető;
- egy-egy minta elemzése 1–2 perc, nagy mintaszám, elemszám érhető el.

Az ICP-OES-módszer hátrányai

- Bizonyos esetekben előfordul a spektrumvonalak átlapolása;
- a mátrixhoz igazodó háttérkorrekció szükséges;
- a készülékek üzemeltetése költséges az argongáz használat miatt;
- a módszerkidolgozás nagyobb szakértelmet, tapasztalatot igényel;
- vonalzavarások és háttérkorrekciós problémák is jelentkezhetnek.

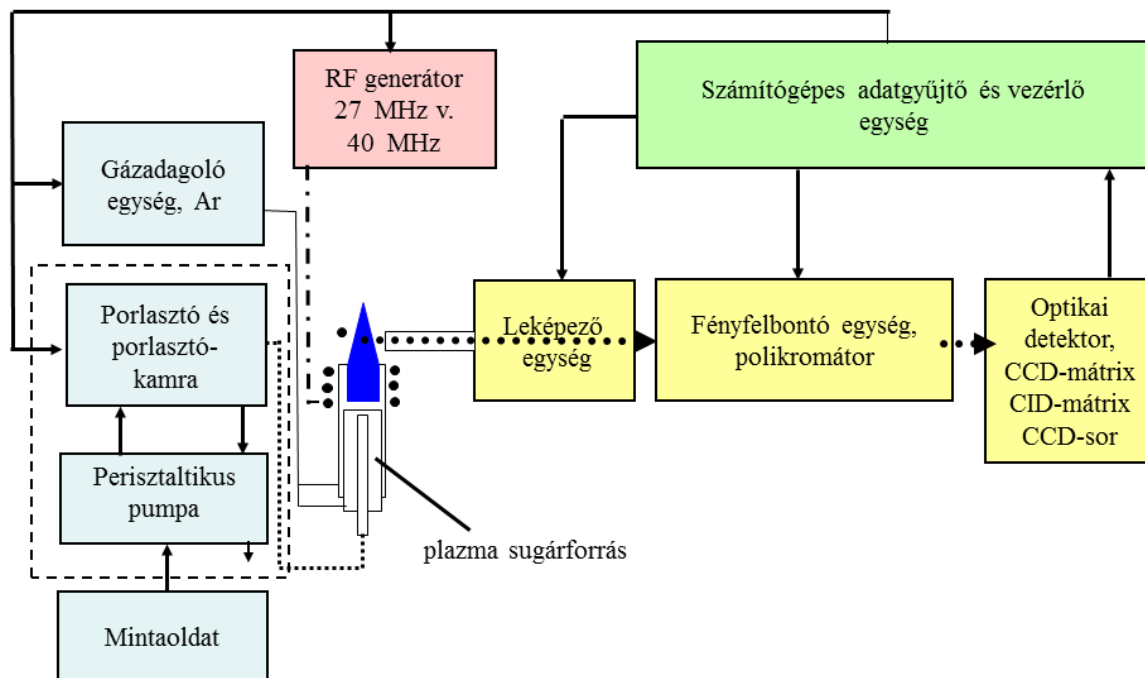
Az ICP-OES-készülékekkel elemezhető oldatminták két jelentősen eltérően viselkedő típusát alkotják a (i) vizes oldatok és (ii) a szerves oldószeres oldatok. A vizes oldatok elemzése általában egyszerűbb és minden készülékkel elvégezhető. A szerves oldószeres oldatok közvetlen ICP-OES-elemzése sokkal nehezebb és csak speciálisan felszerelt készülékkel oldható meg, mert a szerves oldószer könnyen kioltja a plazmát. A szerves oldószeres minták elemzése jellemző a petrokémiai területen.

2.4.2. Az ICP-OES-készülékek felépítése

Az ICP-OES-készülékek egységeit és azok kapcsolatát a 2.4.2.1. ábra szemlélteti. Az egyes egységek feladata, funkciója a következő:

- **plazmasugárforrás**, amely szabadatomos, szabadionos állapotba viszi és gerjeszti a mintát alkotó elemeket és előállítja a minta elemeit jellemző optikai sugárzást;
- **rádiófrekvenciás generátor és illesztő egység**, amely előállítja és szabályozza a plazma működtetéséhez szükséges rádiófrekvenciás energiát;
- **gázadagoló egység**: biztosítja a plazma és mintabevitel argonáramait;
- **mintabeviteli egység (porlasztó, porlasztókamra és perisztaltikus pumpa)**, amely a mintaoldatot aeroszollá alakítja és a kis cseppméretű frakciót bejuttatja a plazmába;
- **leképező egység**: a plazmából jövő optikai sugárzást vetíti a fényfelbontó egységbe;
- **fényfelbontó egység**: polikromátor, amely spektrálisan felbontja a plazma optikai sugárzását, elkülöníti az egyes elemek spektrumvonalait, megjeleníti a spektrumot a detektoron;
- **optikai detektor**: az adott hullámhosszon jelentkező fényintenzitással arányos elektromos jelet állít elő (CCD-mátrix, CID-mátrix, CCD-sor);
- **számítógépes adatgyűjtő és vezérlőegység**: felhasználói programon keresztül működteti a készüléket, méri és feldolgozza az adatokat.

Mintegy 25–30 éves fejlesztés és útkeresés után jutottak el a készülékgyártók oda, hogy a mai korszerű, kisméretű és analitikai teljesítményben szinte ideális készüléktípusokat kifejlesszék. A készülék minden szerkezeti eleme jelentősen változott és azt lehet mondani, hogy a legkorszerűbb készülékek a módszerben rejlő összes lehetőséget az analitikus rendelkezésére bocsátják.



2.4.2.1. ábra. Az ICP-OES-készülék egységei

A korszerű készülékek két alap típusa: (i) Echelle polikromátoros **ICP-OES-készülék**, **CCD- vagy CID-mátrix** detektorral és (ii) Paschen–Runge polikromátoros ICP-OES-készülék, CCD-detektor-sorokkal. Mindkét készülék jellemzője a teljes hullámhossztartomány elérése, nagy felbontás (spektrális sáv szélesség = 5 pm), szabad vonalválasztás és háttérkorrekció, szimultán multielemes üzemmód.

Plazmasugárforrás

A plazmasugárforrás a rádiófrekvenciás generátorral, az RF-csatoló egységgel, a gázadagoló egységgel és a mintabeviteli egységgel együtt képez egy nagyobb egységet az ICP-OES-készülékben.

Generátor

A rádiófrekvenciás generátorok 27 MHz vagy 40 MHz ipari frekvencián működnek, hogy elkerüljék a telekommunikációs rendszerek zavarását. A modern generátorok speciális, nagyfrekvenciás félvezető elemekből épülnek fel. A generátorok kimenő teljesítménye 0,8–2 kW tartományban szabályozható. A generátor kimenete impedancia csatoló egységen keresztül kapcsolódik az indukciós tekercshez. A generátoregység tartalmazza a plazma begyújtásához szükséges Tesla-szíkra egységet és a generátor védelmét szolgáló részeket is.

Gázadagoló

A gázadagoló egység a plazma és mintabevitel gázáramait szolgáltatja, amelybe beletartozik a gázáramok vezérelt ki- és bekapcsolása és az áramlási sebességek finom szabályozása. Különösen gondos szabályozást igényel a belső argonáram, ezt ún. tömegáram-szabályzóval végzik.

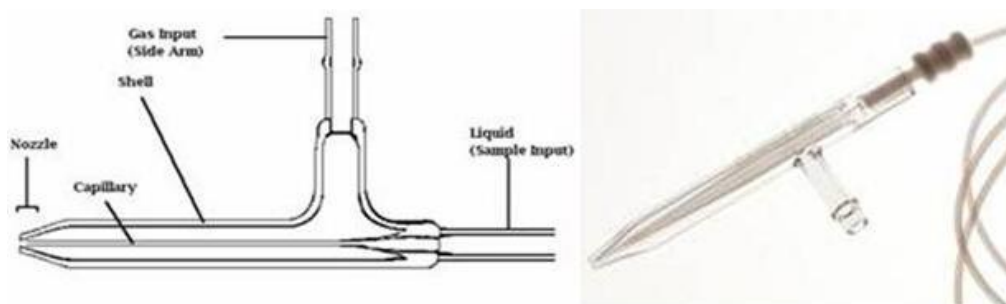
Plazmaégő

A plazmaégő három alapváltozatát használjuk: (i) nem bontható plazmaégő, (ii) részlegesen bontható plazmaégő és (iii) teljesen bontható plazmaégő. A nem bontható plazmaégőt az adott feladattípushoz készítik. A különböző mintatípusok (vizes, hidrogén-fluorid tartalmú és szerves oldószeres) eltérő méretezésű plazmaégőt igényelnek. A mintabevitelt szolgáló, belső ún. injektorcső méretei (hossz és kapillárisátmérő) és anyaga változhat. A plazmaégők nagyon drágák (kb. 100 eFt) és általában egy év alatt elhasználódnak.

Porlasztó, porlasztókamra, perisztaltikus pumpa

Az ICP-OES-készülékekben a különböző típusú analitikai feladatokhoz eltérő konstrukciójú és anyagú porlasztók és porlasztókamrák használata célszerű. A porlasztás szempontjából megkülönböztetett mintatípusok: (i) nagyon híg vizes oldatok, (ii) híg vizes oldatok, (iii) nagyobb sótartalmú (1–2%) vizes oldatok, (iv) szerves oldószeres oldatok, (v) hidrogén-fluorid tartalmú oldatok. A porlasztók hatásfoka is eltérő, ami a kimutatási határokat befolyásolja.

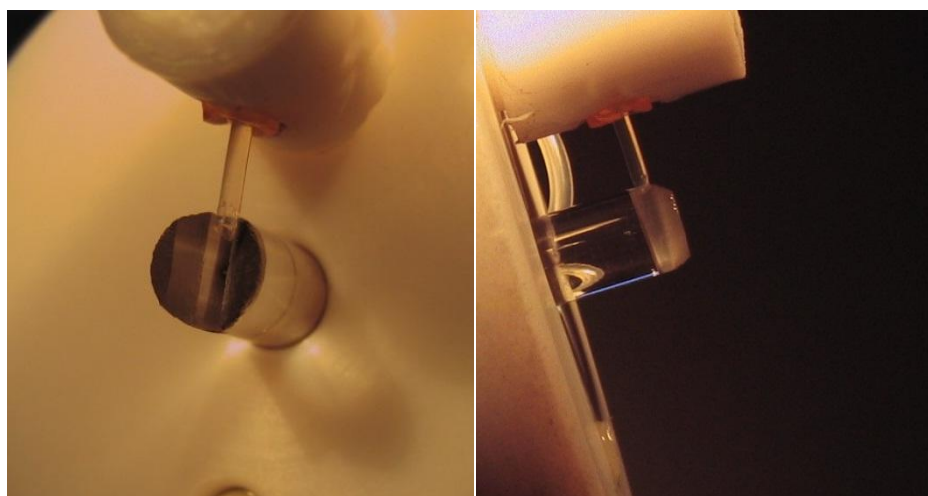
Néhány fontosabb porlasztótípust mutatunk be a 2.4.2.2. ábraán, a 2.4.2.3. ábraán és a 2.4.2.4. ábraán. A porlasztókat különböző konstrukciójú porlasztókamrákkal illesztjük a plazmaégőhöz. Az ICP-hez használt porlasztók általában nem önfelszívók, ezért a mintaoldatot perisztaltikus pumpával tápláljuk a porlasztóba állandó térfogati sebességgel. A porlasztókamrában lekondenzált mintát is perisztaltikus pumpával távolítjuk el.



2.4.2.2. ábra. Koncentrikus porlasztó az ICP-OES-készülékhez



2.4.2.3. ábra. Szögporlasztók ICP-OES-készülékhez



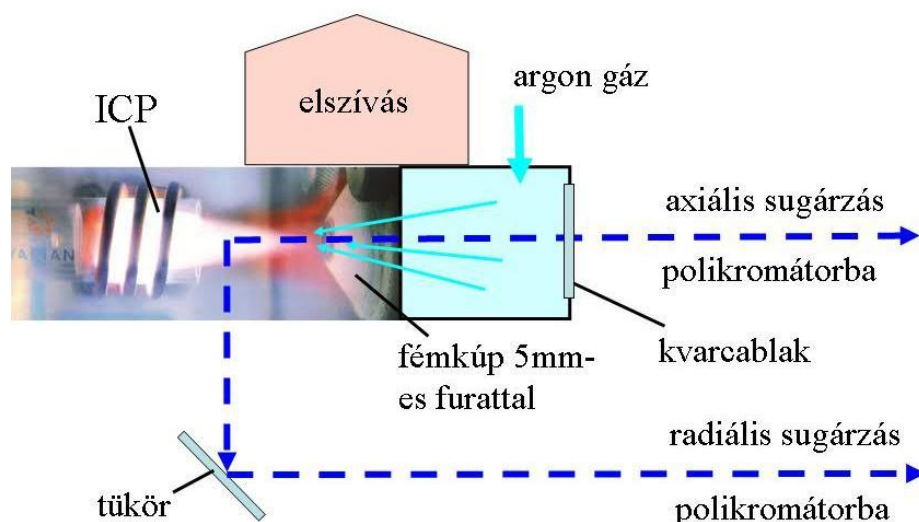
2.4.2.4. ábra. V-porlasztó ICP-OES-készülékhez. Előlnézet és oldalnézet

Leképező egység

A leképező egység feladata, hogy a plazmába juttatott minta által kibocsátott sugárzást a polikromátorba vetítse lencse vagy tükrök segítségével. A készülékekben a feladatokhoz igazodóan radiális leképezést, axiális leképezést vagy tükrözéssel váltható radiális és axiális leképezést valósítanak meg. Az axiális leképezéssel kb. egy nagyságrenddel javíthatók a kimutatási határok, de a felső koncentrációhatár is lejjebb kerül.

A készülékekben a polikromátor optikai tengelye általában vízszintes és egy kis ($5\text{--}10^\circ$) térszögben érkező fénynyalábot fogad be. Ha a plazmát függőleges irányban helyezik el a készülékben, az ún. radiális leképezést lehet alkalmazni, amikor is az analitikai zóna néhány milliméter magas szakaszából, vízszintesen, oldalirányban haladó sugárzást tudjuk hasznosítani. A megoldás előnye, hogy a forró, korrózív plazmagázok felülről egyszerűen elszívhatók és nem veszélyeztetik a leképező optikai elemeket.

Az ún. axiális leképezéshez a plazmát vízszintesen helyezik el a készülékben a leképező egység és polikromátor optikai tengelyéhez igazítva. Ebben az esetben sokkal nehezebb megoldani a leképező optikai elemek védelmét a plazma károsító hatásától. Az axiális leképezéshez gyakran alkalmazott megoldást mutat be a 2.4.2.5. ábra. A plazmát egy 5 mm-es furattal rendelkező vízűtéses fémkúptól 20–25 mm-re helyezik el úgy, hogy a fémkúp csúcsa a plazmába merül. A fémkúp egy kvarcablakkal lezárt térhez csatlakozik, melyet argongázzal öblítenek. A fémkúp nyílásán a plazma felé kiáramló argongáz megakadályozza a plazmagázok behatolását a leképező egységbe. Ez a megoldás lehetőséget ad arra is, hogy a plazmából radiálisan kilépő sugárzást mozgatható tükrökkel a polikromátorba vetítsük.



2.4.2.5. ábra. Axiális és radiális kombinált leképező rendszer ICP-OES-készülékhez

2.4.3. Fényfelbontó egység, polikromátor, spektrométer

Az induktív csatolású plazma sugárforrás kínálta analitikai lehetőségek maximális kihasználásához az ICP-OES-készüléknek az alábbi tulajdonságokkal kell rendelkeznie:

- nagy felbontású polikromátorral felépített spektrométer,
- CCD- vagy CID-detektor 150000–1000000 detektorelemmel,
- hullámhossztartomány 160–770 nm,
- a spektrális sáv szélesség (SBW) 5 pm,
- a teljes hullámhossztartomány kiválasztott részeinek egyidejű észlelése,
- a spektrumvonalak és a vonalak környezetének egyidejű detektálása,
- váltható radiális és axiális leképezés,
- argon töltésű vagy vákuum polikromátor a 200 nm alatti hullámhossztartomány eléréséhez.

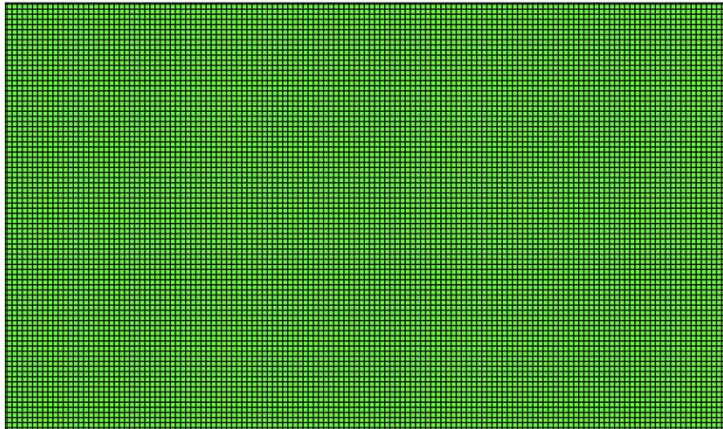
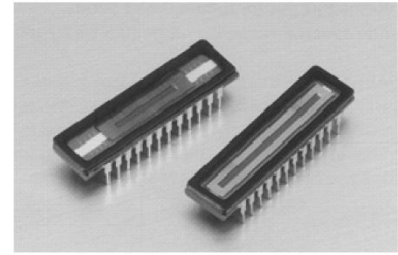
A fenti követelményeket két spektrométer típus tudja biztosítani: (i) echelle polikromátor egy darab egy megapixelés CCD-mátrix vagy CID-mátrix detektorral vagy (ii) Paschen–Runge rendszerű polikromátor 20–30 darab CCD-detektorsorral. A készülékek közös jellemzője, hogy sok detektorelemet, pixelt tartalmazó CCD- vagy CID-elven működő szilícium alapú, félvezető detektorokat alkalmaznak.

A mérés technikai célra kifejlesztett két detektorstruktúrát szemlélteti a 2.4.3.1. ábra.

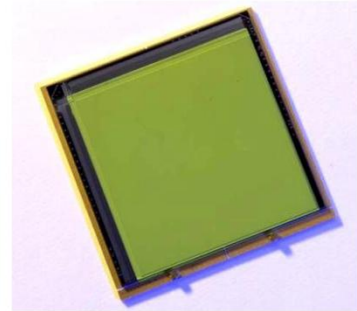
A detektorok külön kiolvasható, 10–20 μm -es négyzet alakú kis detektorelemekből épülnek fel. A CCD-detektorsor elrendezésénél x irányban, ami a hullámhossznak felel meg, 1024 vagy 2048 pixelt találunk, y irányban pedig pl. 16 pixelt. Ez a detektorstruktúra jól használható azokban a spektrométerekben, ahol a spektrum alakja hasonló. A CCD-mátrix és CID-mátrix detektorstruktúra jellemzője, hogy x és y irányban is 1024×1024 detektorelem található. Ez a struktúra jól illeszkedik a echelle polikromátorok által előállított spektrum megjelenítéshez az ún. echellogramhoz.



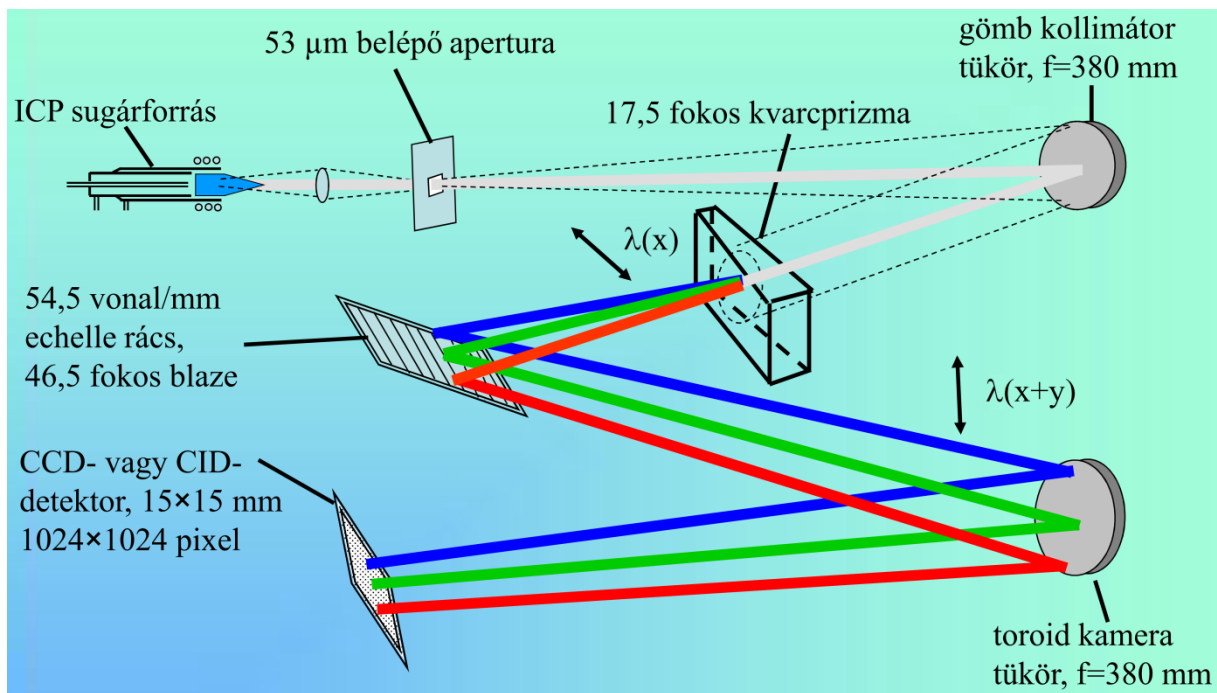
CCD-sor detektorstruktúra (pl. 2048×16 pixel, 14×14 μm)



CCD-mátrix detektorstruktúra (pl. 1024×1024 pixel, 14×14 μm)



2.4.3.1. ábra. CCD-detektorstruktúrák



2.4.3.2. ábra. Echelle polikromátoros ICP-OES-készülék optikai vázolata

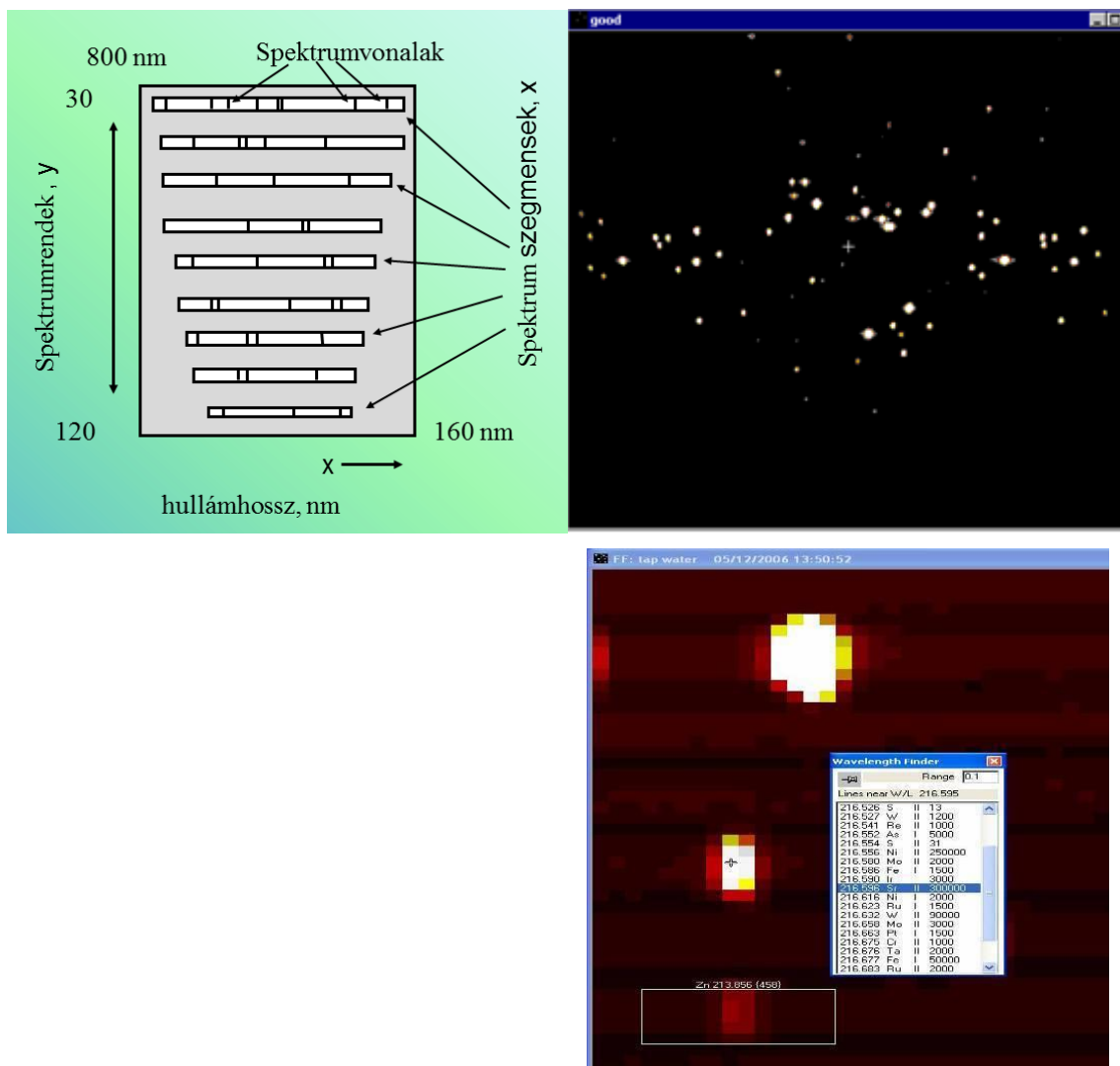
Egy korszerű CCD- vagy CID-detektorral rendelkező echelle polikromátoros készülék optikai rendszerének felépítését mutatja be a 2.4.3.2. ábra. A plazmasugárforrás analitikai zónájából kilépő sugárzást a polikromátor belépő aperturáján keresztül vetítjük a gömb kollimátor tükörré, ami a belépő sugárzást párhuzamos nyalábbá formálja át. Ez a párhuzamos sugárnyaláb áthalad egy kvarcprizmán, amely vízszintes síkban (x) bontja fel a fényt. A fénysugár ezt követően echelle optikai rácsra kerül,

ami függőleges síkban (y) bontja fel a fényt és sok kis spektrumszegmenst állít elő a 30–120. spektrumrendben. A prizma és az optikai rács által x, y síkban felbontott fénynyalábot a toroid kameratükör fókuszálja és a detektor síkjában előállítja az ún. echellogramot mint képet (2.4.3.3. ábra).

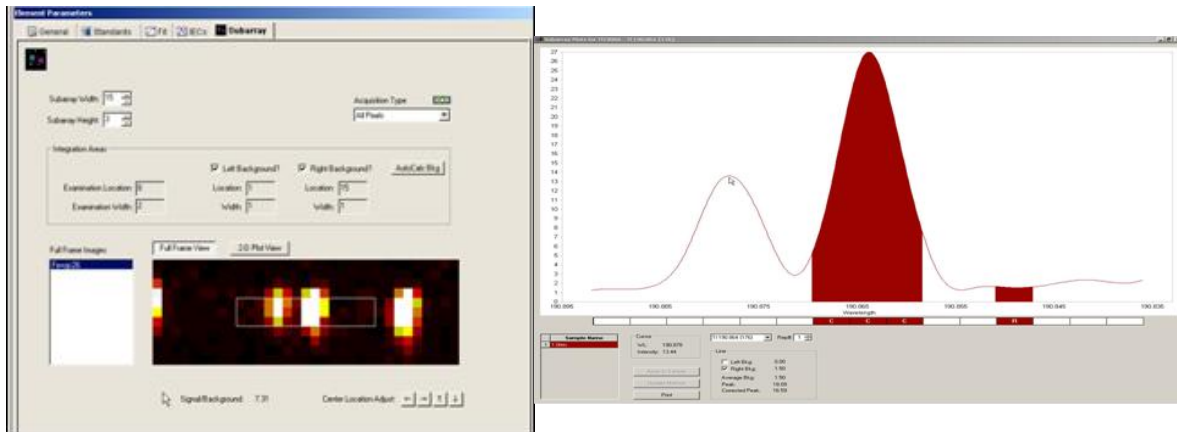
Az echellogramban a 160–800 nm-es spektrumtartomány egy felületen jelenik meg. Ez a nagyon tömör megjelenítési forma jól illeszkedik a digitális képalkotás céljára (kamerák) kifejlesztett CCD-mátrix detektorok struktúrájához. Az 15×15 mm-es echellogramban tömörített spektrumszegmensek összes hosszúsága kb. 1,2 méter. A 2.4.3.3. ábra rajzban és képekben is bemutatja az echellogram szerkezetét. A felső fénykép a teljes detektor felületen megjelenő intenzitáseloszlást mutatja a képernyőn megjelenítve, míg az alsó kép kinagyítva mutatja három spektrumvonal pixelképét.

A pixelekhez rendelt hullámhossz felhasználásával a számítógép előállítja a spektrumot (x = hullámhossz, y = intenzitás) lásd. 2.4.3.4. ábra. A készülék kiváló spektrális felbontását szemlélteti a tallium dublett ($\Delta\lambda = 14$ pm) spektrumrészlet, lásd 2.4.3.4. ábra.

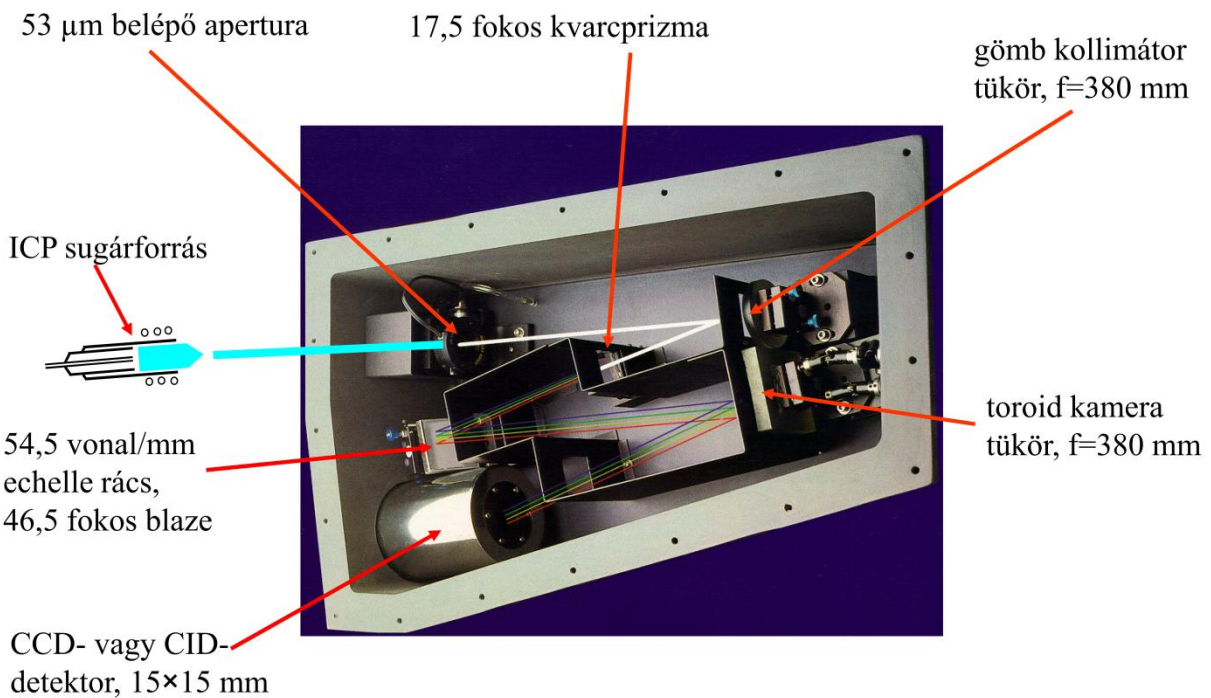
Egy echelle polikromátoros ICP-OES-készülék optikai rendszerének fényképét mutatja 2.4.3.5. ábra, melyen rajzos formában jelenítettük meg a fényutat és a fényfelbontás fázisait.



2.4.3.3. ábra, Echellogram felépítése és megjelenése a készülék képernyőjén teljes pixelképként és kinagyított részleten



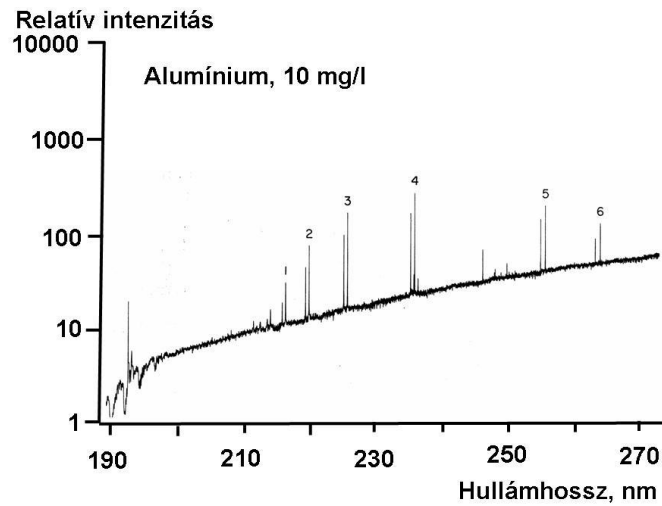
2.4.3.4. ábra. A pixelkép szoftveres konverziója spektrummá. A tallium dublett felbontásának bemutatása: 190.864 nm és 190.878 nm, egy pixel= 0,0035 nm



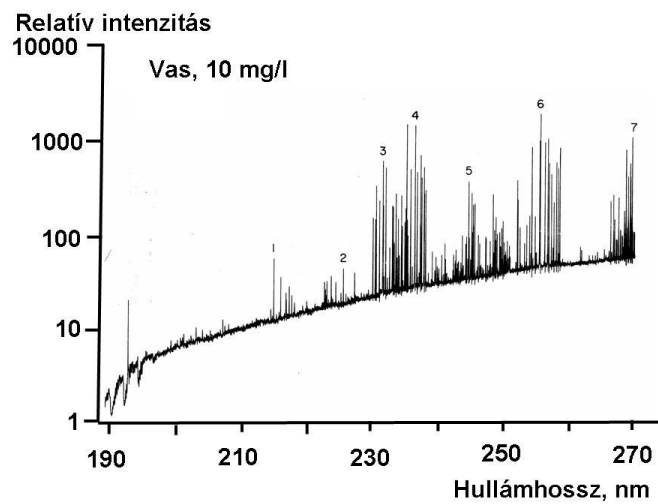
2.4.3.5. ábra. Echelle polikromátoros ICP-OES-készülék polikromátorának fényképe a fényút rajzos megjelenítésével

2.4.4. ICP-OES-spektrumok szerkezete, háttérkorrekció

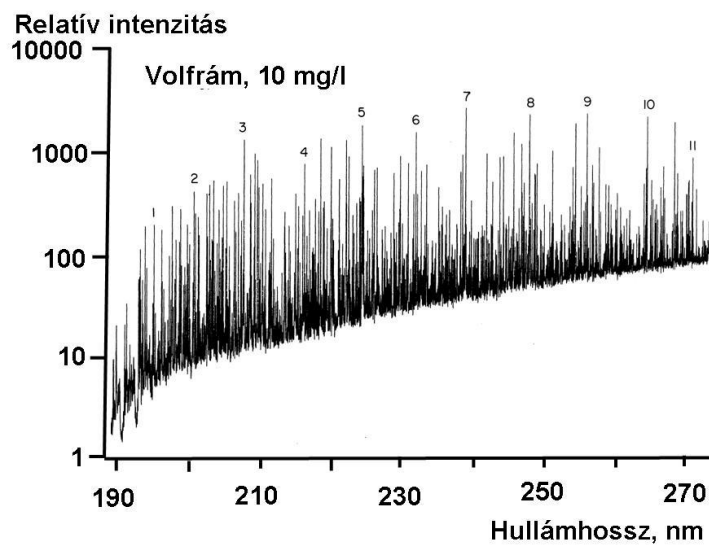
Az induktív csatolású plazmából származó spektrumok jellegzetességeit a 2.4.4.1. ábra, a 2.4.4.2. ábra és a 2.4.4.3. ábra mutatja be. Ezekon az ábrákon alumínium, vas és volfrám 10 mg/l koncentrációjú, oldatának porlasztása során, nagy felbontású monokromátorral a 190–270 nm tartományban regisztrált spektrumrészleteket látunk. A választott elemek közül az alumínium vonalszegény, a vas közepesen vonaldús, míg a volfrám nagyon vonaldús spektrumot ad. A spektrumokon megfigyelhető, hogy az ICP-spektrumban a spektrumvonalak a plazma folytonos alapsugárzására szuperponálódnak. Ez azt jelenti, hogy a mennyiségi kiértékelés során háttérkorrekciót kell végezni, azaz a spektrumvonal intenzitásának meghatározásához a plazma háttérsugárzását le kell vonni az összes intenzitásból. A spektrumokon számozással megjelölt vonalak az adott elem jól ismert, ún. elsődleges analitikai vonalai.



2.4.4.1. ábra. Alumínium (10 mg/l) ICP-spektruma a 190–270 nm hullámhossztartományban



2.4.4.2. ábra. Vas (10 mg/l) ICP-spektruma a 190–270 nm hullámhossztartományban

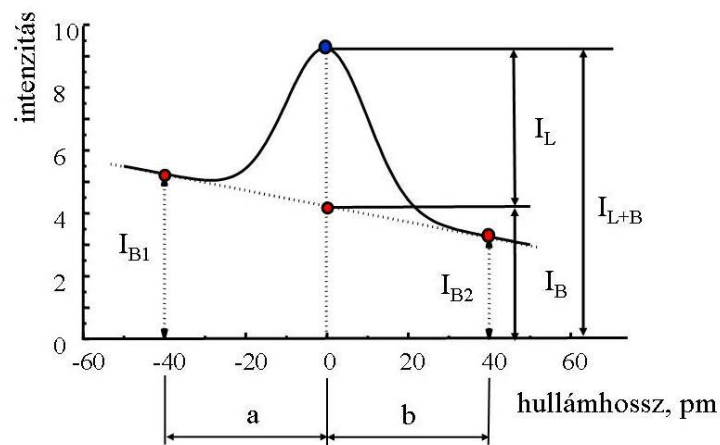


2.4.4.3. ábra. Volfrám (10 mg/l) ICP-spektruma a 190–270 nm hullámhossztartományban

A reális, több elemet tartalmazó minták esetében az elemek spektrumai összeadódnak. Könnyen belátható, hogy a volfrámhoz hasonlóan vonaldús spektrumú mátrixelem mellett nehéz egy másik elem meghatározása. A mátrixkoncentráció növelésével a helyzet tovább súlyosbodik, mert a spektrumvonalak száma megsokszorozódik a gyengébb vonalak megjelenésével. A spektrumok kiértékelése nagy felbontású készülék (SBW = 5 pm) alkalmazásával a fentiek ellenére viszonylag jól megoldható. A spektrumvonalak félértékszélessége a kisebb koncentrációjú elemekre 3–20 pm, ezért az ideális optikai felbontás a nagy felbontású, 3–5 pm spektrális sáv szélességű készülékekkel érhető el.

A detektor az adott hullámhossztartományban jelentkező sugárzás összegével, I_{L+B} arányos jelet szolgáltat, azaz a detektor a vonal és háttérsugárzás összegét, $I_{L+B}=I_L+I_B$ méri (2.4.4.4. ábra). A számunkra hasznos elemspecifikus analitikai információt az I_L vonalintenzitás hordozza, melyet az I_{L+B} és I_B intenzitás külön-külön végzett mérésével határozzuk meg, majd számítjuk az I_L vonalintenzitást.

Az ún. vonal melletti háttérkorrekció lehetővé teszi, hogy az adott minta mérése során kapott spektrumrészlet adatait felhasználva történjen a háttérkorrekció. Ennek során a λ_0 hullámhossznál mérjük az I_{L+B} intenzitást, majd a vonal mellett mért I_{B1} és I_{B2} intenzitásból számítjuk az I_B intenzitást. A vonal melletti háttérkorrekciós helyeket és az interpolálás algoritmusát a módszerkidolgozás során mintával felvett spektrumrészletekben jelöljük ki.

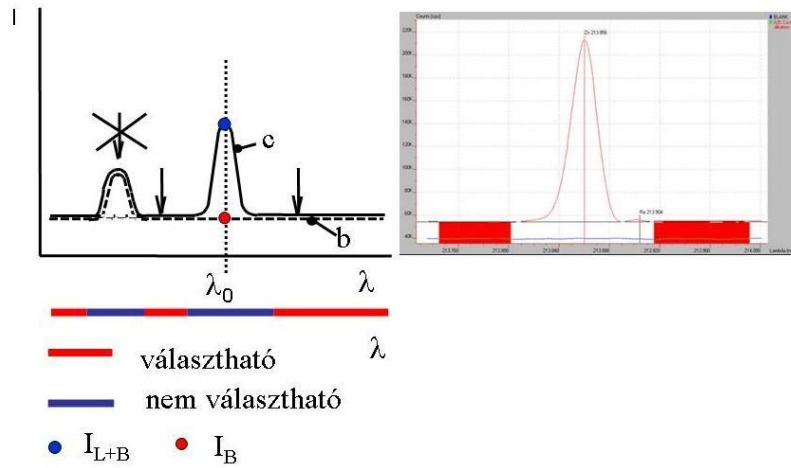


2.4.4.4. ábra. A vonal melletti háttérkorrekció elve ICP-OES-mérésnél

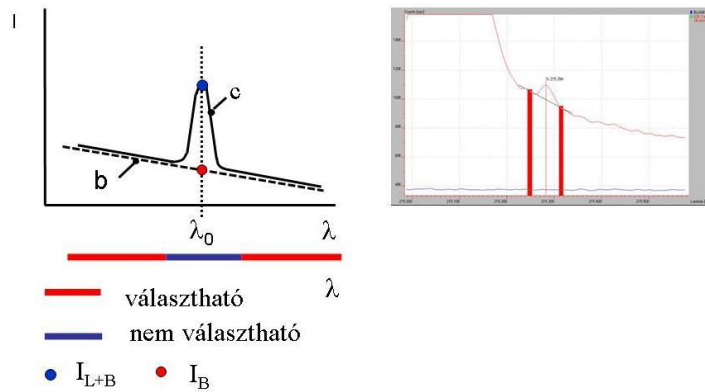
A három háttérkorrekciós alapesetet:

- a háttér vízszintes (2.4.4.5. ábra),
- a háttér egyenes (2.4.4.6. ábra),
- a háttér görbe (2.4.4.7. ábra) rajzokon és a készülék képernyőjén megjelenő formában mutatjuk be.

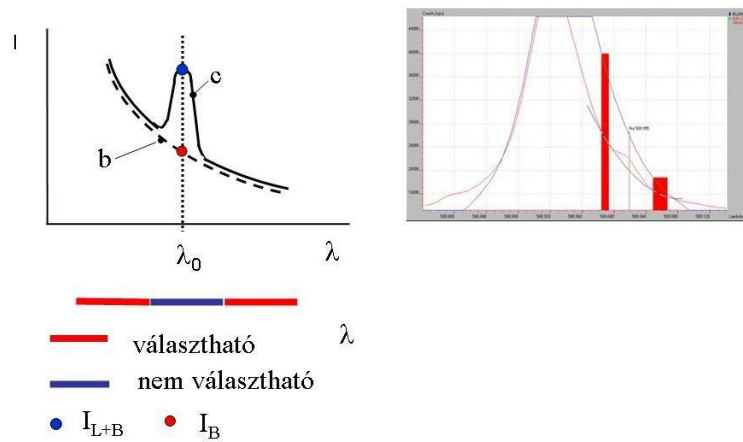
A kezelő a spektrumrészleten kijelöli a háttérkorrekciós helyeket és megválasztja az algoritmust. Ezt követően a spektrumban megjelenik a számított háttér vonala.



2.4.4.5. ábra. Háttérkorrekció vízszintes háttér esetén



2.4.4.6. ábra. Háttérkorrekció egyenes háttér esetén



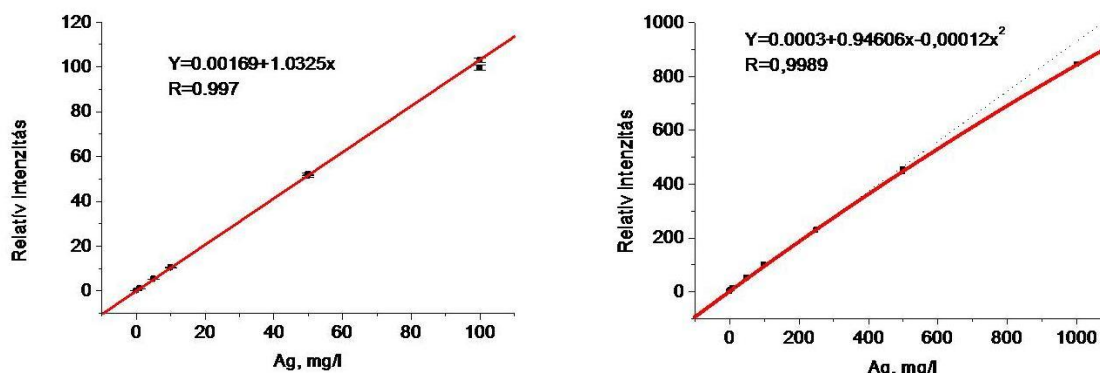
2.4.4.7. ábra. Háttérkorrekció görbe háttér esetén

2.4.5. Az ICP-OES-készülék kalibrálása

Az ICP-OES-módszer kalibrációs függvénye elvileg lineáris $I = kc$ alakú. A módszer dinamikus koncentrációtartománya, melyet a kimutatási határtól számítunk, 5–6 nagyságrend is lehet. Ez nagyon hasznos sokelemes elemzéseknél, amikor a főalkotók, mellékalkotók és nyomelemek nagyon széles koncentrációtartományba esnek. A mennyiségi elemzéshez az ICP-OES-készüléket kalibrálni kell. A gyakorlatban a kimutatási határtól számított 3–4 nagyságrend tartományban a kalibrációs függvény általában lineáris, szélesebb 5–6 nagyságrend tartományban kissé lehajló jellegű.

Ha az ICP-OES-módszer kínálta lehetőségeket teljesen ki kell használni, a kalibrálást a kimutatási határtól számított 5–6 nagyságrend tartományban végezzük. Ilyenkor a kalibrálást a vizsgált elemeket ismert koncentrációban tartalmazó 8–10 tagú kalibráló oldat sorozattal végezzük, lefedve a fenti széles koncentrációtartományt. A kalibráló oldatokkal meghatározzuk a koncentráció, korrigált intenzitás (c , I_L) értékpárokat, majd a kalibrációs függvényt $I = f(c)$. A kísérleti kalibrációs függvényt egyenessel, másodfokú vagy harmadfokú polinommal közelítjük, a mért és számított pontok százalékos eltéréseinek alapján ítélve meg az illeszkedés jóságát. A függvények menetét és az illeszkedés jóságát numerikusan és grafikusán is ellenőrizzük. A kalibrációt követően az illesztett függvények felhasználásával számítja a program mintával kapott jelekből a minták elemkoncentrációit.

A 2.4.5.1. ábra az ezüst (hullámhossz: 328,068 nm, kimutatási határ: 0,007 mg/l) kalibrációs függvényét mutatja be a 0–100 mg/l és a 0–1000 mg/l koncentrációtartományban. A 0–100 mg/l tartomány négy nagyságrend, a 0–1000 mg/l öt nagyságrend dinamikus tartománynak felel meg. A 0–100 mg/l tartományban a kalibrációs függvény egyenessel közelíthető, míg a 0–1000 mg/l tartományban csak másodfokú polinommal lehetett megfelelő illeszkedést elérni.



2.4.5.1. ábra. Ezüst ICP-OES-módszerrel kapott kalibrációs függvényei a 0–100 mg/l és a 0–1000 mg/l tartományban

A nagy teljesítményű, sokelemes, szimultán multielemes ICP-OES-készülékek kalibrációja nagyon munkagényes és nagy tapasztalatot igénylő feladat. A munka a vonalak megválasztásával indul, a háttérkorrekciós helyek és módszerek kiválasztásával folytatódik, majd utána következnek a kalibrálás és a kalibrációs függvények meghatározása.

2.5. ATOMABSORPCIÓS SPEKTROMETRIA (AAS)

2.5.1. A módszer bemutatása

Az atomabszorpciós módszerek széles körű elterjedése az 1970-es években kezdődött. Az AAS-módszerek a laboratóriumok általánosan alkalmazott elemanalitikai, nyomelemanalitikai módszerei. Mintegy 65 elem meghatározására alkalmasak, ebbe beletartoznak a fémek és a nemfémek közül a B,

Si, As, Se és Te. Az AAS-módszer négy, egymást kiegészítő változatát: a láng-AAS, a grafitkemence-AAS, a higany-AAS- és a hidrid-AAS-módszert használjuk. Az atomabszorpciós elemzés során az oldatmintából lángban, grafitkemencében, vagy kvarcküvetében előállított szabadatomok elemspecifikus fényelnyelését mérjük a kiválasztott elem fotonokkal jól gerjeszhető elektronátmenetének megfelelő hullámhosszon kb. 0,002 nm félértékisélességű monokromatikus fényel.

Az atomabszorpciós méréseknél két technikai nehézséggel találkozunk, az egyik a szabadatomok előállítása és fenntartása a mérés idejére, azaz a minta atomizálása, a másik az atmoszférikus nyomáson kb. 0,005 nm hullámhossztartományban lejátszódó szabad atomos abszorpció mérése. Az abszorpciómérés monokromatikussági feltétele akkor valósul meg az AAS-mérésnél, ha a hullámhosszbeállítás pontossága abszolút skálán kb. 0,001 nm, és a megvilágító fény félértékisélessége kisebb, mint 0,005nm, azaz az abszorpciós vonal szélessége. Ezek nagyon nehezen teljesíthető feltételek, mert a jobb UV-VIS-spektrométerek spektrális sávszélessége is csak 0,1 nm, amely kb. két nagyságrenddel rosszabb a szükségesnél.

A kereskedelmi forgalomban lévő atomabszorpciós készülékben az alábbi két elvet használják:

- folytonos spektrumú fényforrásból (xenonlámpa) és nagy felbontású Echelle (SBW = 0,002 nm) monokromátorból álló készülék (2003-tól),
- a meghatározandó elem vonalas spektrumát emittáló fényforrásból (pl. vájtkatódú lámpa) és közepes felbontású monokromátorból (SBW= 0,1–2 nm) álló készülékek (1965-től).

2.5.2. AAS-készülék folytonos spektrumú fényforrással (2003-tól)

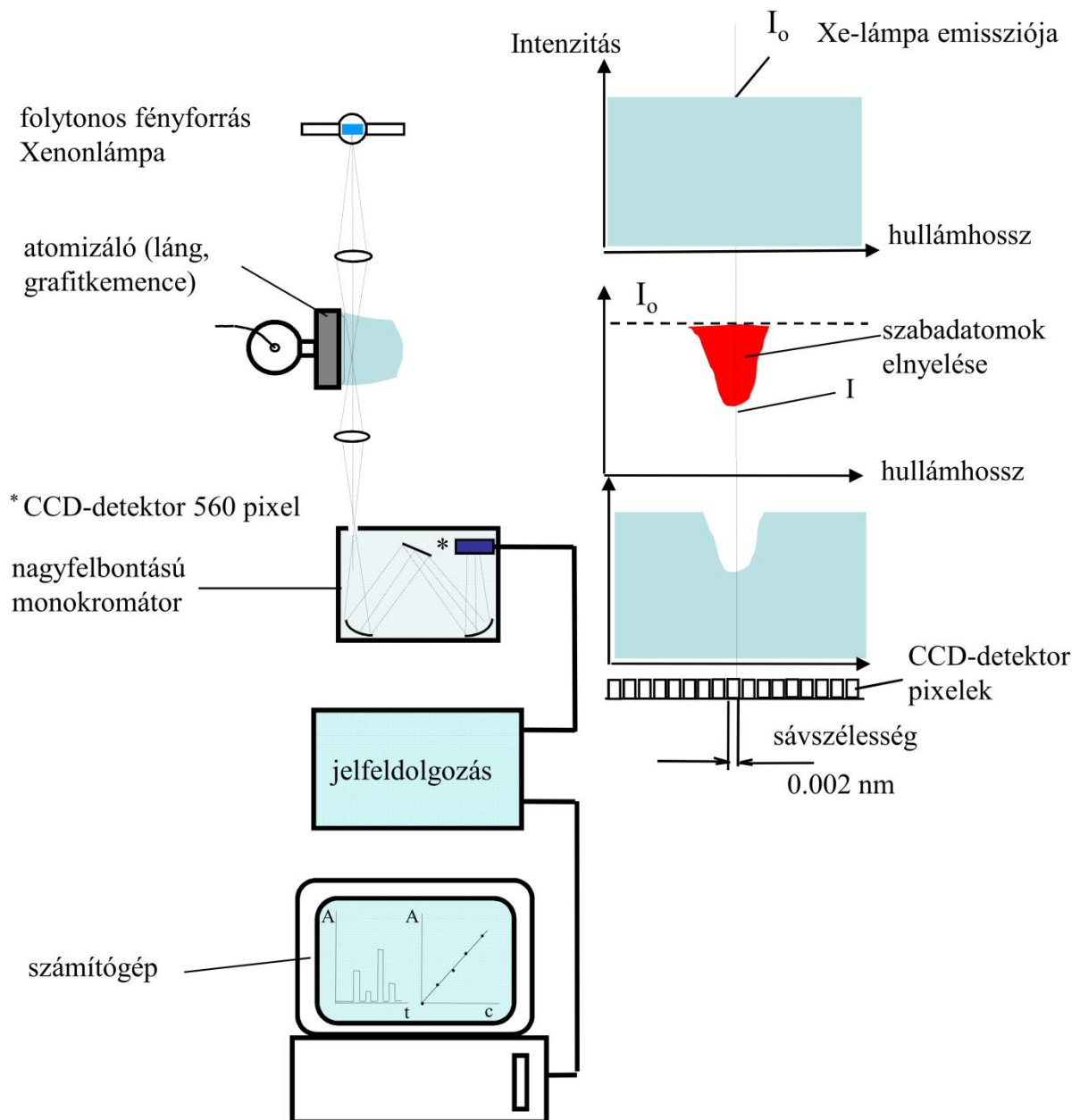
Az első, folytonos spektrumú fényforrást és nagy felbontású monokromátort alkalmazó megoldás csak az utóbbi években (2003-tól) vált technikailag és gazdaságosan megvalósíthatóvá. Jelenleg csak egy cég gyárt ilyen készüléket. Ezekkel a készülékekkel még kevés a gyakorlati tapasztalat.

A folytonos spektrumú fényforrással működő AAS-készülék felépítését a [2.5.2.1. ábra](#) mutatja be. A fényforrás egy speciális xenon kisülési lámpa. A kisülés anódterében keletkező, nagy intenzitású zónát képezik le. A kb. 0,002 nm-es felbontást kettős monokromátorral érik el, melynek a második tagja egy echelle monokromátor. A detektor egy 512 tagú CCD sor, amelyen egyszerre megjelenik a spektrumvonal és egy szűkebb környezete, amit egyszerre lát a készülék. Ez szükséges a spektrumvonal megtalálásához és a háttérkorrekciós méréshez is.

A konstrukció előnyei:

- egy fényforrással oldja meg az összes elem mérését,
- megoldja a háttérkorrekciós mérést,
- egyszerűen lehet a mért elemet váltani.

Hátránya, hogy a spektrumvonal azonosítása nem annyira megbízható.



2.5.2.1. ábra. Folytonos spektrumú fényforrással működő AAS-készülék felépítése

2.5.3. AAS-készülék vájtkatódú lámpa fényforrással (1965-től)

A vájtkatódú lámpára (VKL) alapozott megoldás kidolgozása nyitotta meg az utat az atomabszorpciós elvű analitikai módszerek előtt (1965). A megoldás előnyei:

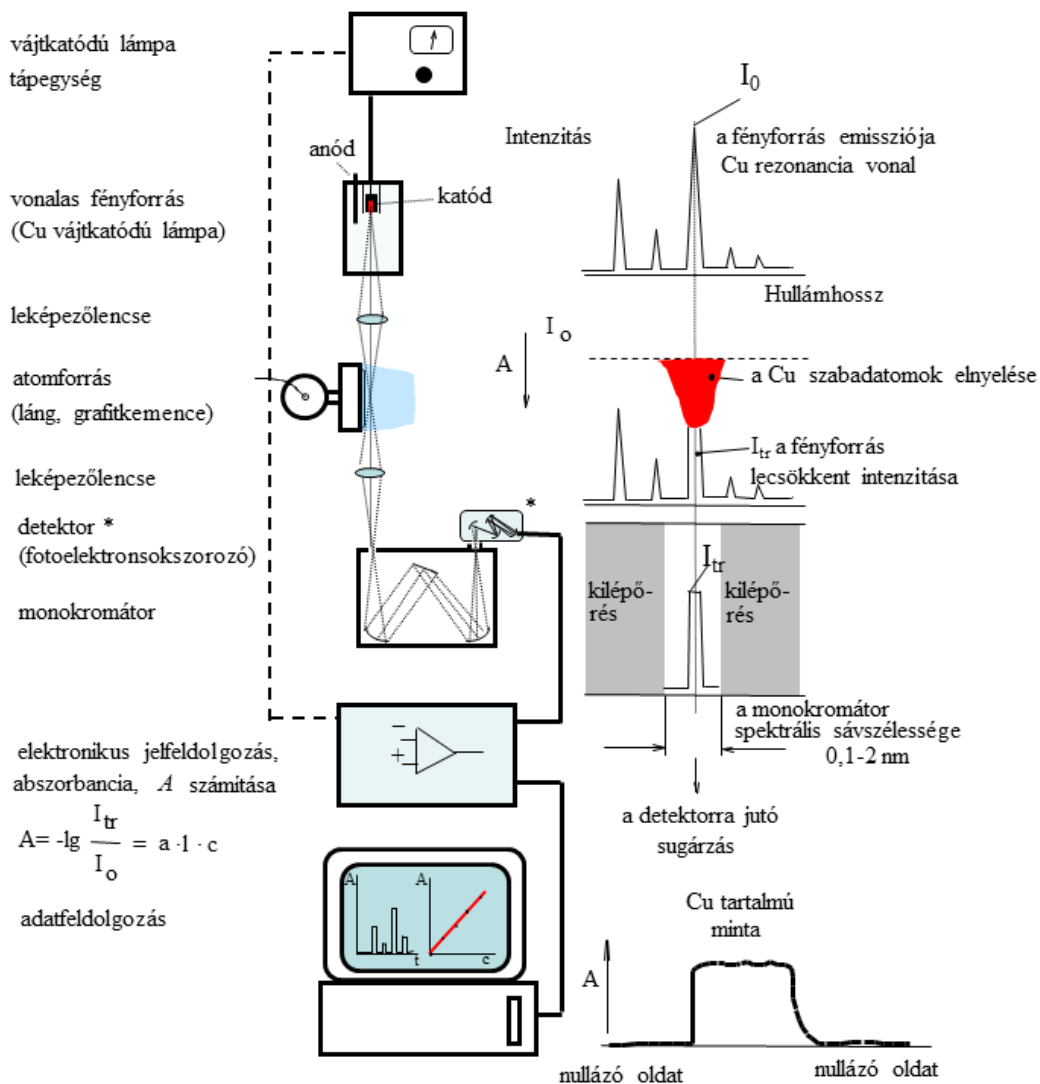
- a leggyakrabban használt monoelemes VKL-kal csak egy adott elem mérhető, tehát nem történhet elemtévesztés, a szelektív meghatározás garantált;
- a fényforrások fényereje az adott hullámhosszon sokszorososa annak, amit a folytonos spektrumú fényforrások adnak, ami kedvezőbb jel/zaj viszonyt eredményez.

A VKL-AAS-készülék felépítését a 2.5.3.1. ábra szemlélteti. A készülék főbb részei:

- a megvilágító fényforrás és a hozzá tartozó tápegység,
- az atomforrás (láng, grafítkemence vagy kvarckemence stb.),
- a monokromátor,
- a detektor (fotoelektron-sokszorozó),

- az elektronikus jelfeldolgozó egység és
- az adatfeldolgozó számítógép.

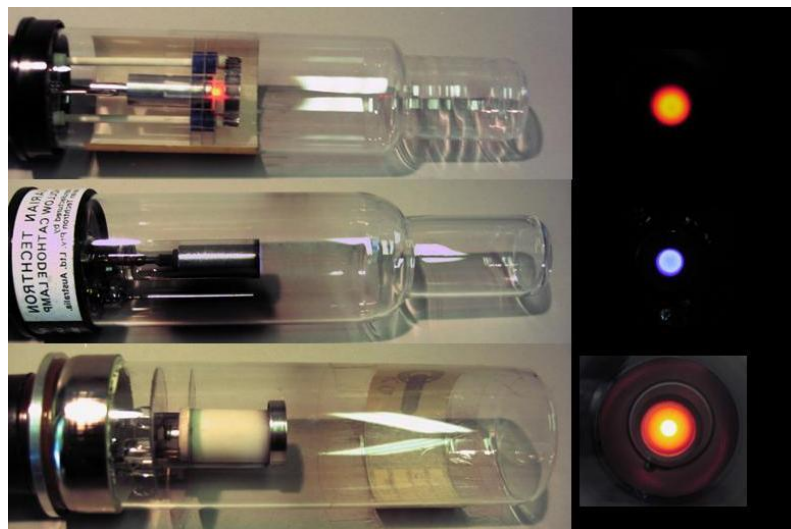
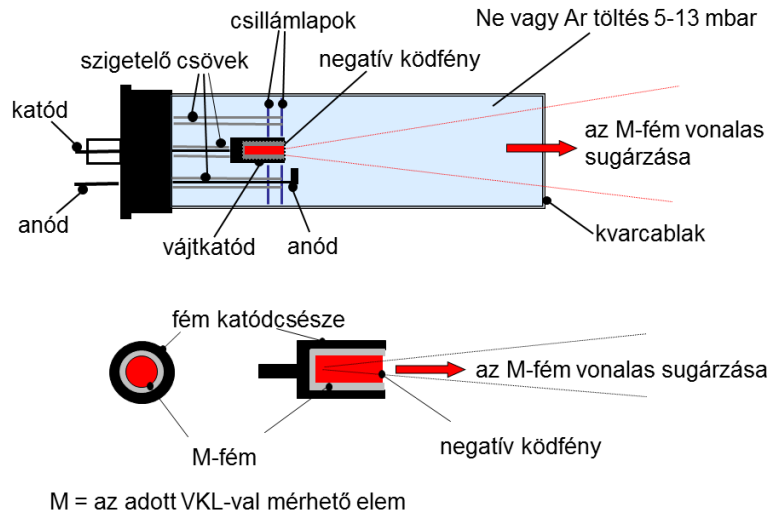
Az egyes egységeket sematikusan a 2.5.3.1. ábra mutatja. Az ábra jobb oldalán az abszorpció mérés lépéseit követhetjük nyomon kis spektrumrészleteken. A fényforrás a meghatározandó elem vonalas spektrumát bocsátja ki, melyben jól elkülönül az adott elem rezonancia vonala a többi vonaltól. A pontszerű fényforrás fényéből a leképező rendszer (lencse vagy gömbtükör) sugárnyalábot formál és ez halad át az atomforráson. Az atomforrás a mintában található elemeket szabad atomos gázzá alakítja át, amelyek az adott elemre jellemző hullámhosszon, kb. 0,005 nm szélességű tartományban abszorbeálják a fotonokat.



2.5.3.1. ábra. Vájtkatódú lámpával működő atomabszorpciós készülék felépítése

A példán követhető, hogy a réz VKL-fényforrás által emittált keskeny rezonanciavonal (324,7 nm) egybeesik a réz szabadatomok kicsit szélesebb abszorpciós vonalával (324,7 nm) és az elnyelés következtében az I_0 intenzitás lecsökken I_{tr} értékre. A többi elem szabadatomjainak elnyelése más hullámhosszokon jelentkezik, így a réz VKL spektrum 324,7 nm-es vonalát nem nyelik el, ezáltal biztosított az AAS-mérés szinte tökéletes szelektivitása.

A monokromátor spektrálisan felbontja a VKL-sugárzását és a kilépő réssel egy 0,1–2 nm-es spektrális sáv szélességű részt enged a fotoelektron-sokszorozó detektorra. A monokromátor felbontása csak ahhoz elegendő, hogy a VKL összetett vonalas spektrumából a kívánt rezonanciavonalat lokalizálja, de az AAS-méréshez szükséges monokromatikusit a VKL és a monokromátor együtt biztosítja.

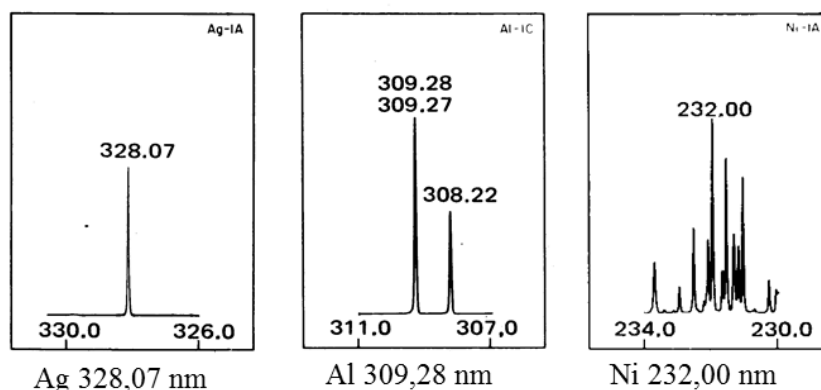


2.5.3.2. ábra. A vájtkatódú lámpa felépítése és működése. Különböző konstrukciójú vájtkatódú lámpák fényképei és a működő lámpa katódüregének képe

Az atomabszorpciós mérésekhez az esetek nagyobb részében vonalas fényforrásként speciális kisülési csövet, vájtkatódú lámpát használunk (2.5.3.2. ábra). A fényforrás hengeres alakú katódjában 3–4 mm átmérőjű zsákfurat van. Az egyszerűbb esetekben a katód a meghatározandó fémből, *M*-ből készül. Ha ez nem megvalósítható, akkor a tiszta anyaggal bélelik ki a katódcsészét vagy az adott elem valamilyen ötvözetét használják bélésként. Az anód és a katód tartóelemei volfrámból készülnek. Az anód- és a katódtér csak az üreg felőli oldalon szabad, a többi irányban kerámiacső, csillámlap, üvegcső szigetelő elemekkel akadályozzák meg a kisülés kialakulását.

Az elektródokat az ábrán látható elrendezésben üvegburába forrasztják be, amit a vonal hullámhossztól függően üveg (VIS) vagy kvarc (UV) ablakkal zárnak le. A fényforrást gondosan evakuálják, majd 4–10 mbar nyomásig argon vagy neon gázzal töltik fel. Ha az így elkészített fényforrás elektródjai közé 250–400 V feszültséget kapcsolunk, és 2–25 mA áramot folytatunk át, csendes, ún. glimm-kisülés alakul ki, melynek a negatív ködfény tartománya magában a katódüregben alakul ki. Az elektromos erőterben az elektronok és ionok felgyorsulnak és az elektródok felé vándorolnak. A felgyorsuló elektronok lavinaszerű ionizációt okoznak és nagyszámú töltéshordozót hoznak létre az elektródok közötti gáztérben.

Az elektronok gyorsabb mozgása miatt a katód előtt nagyobb feszülteség alakul ki, ami a pozitív gázionokat erősen felgyorsítja. A nagy energiájú ionok a katódra csapódva szabadatomokat és elektronokat „ütnek ki”, így kerülnek a katód belső felületéből származó szabadatomok a katód üregbe (katódporlasztás), ahol elektronütközéssel gerjesztődnek, és a jellemző vonalas atomspekttrumot emittálják. A fényforrás sugárzása pontszerű és a katódban található elem(ek) vonalait mellett a töltőgáz vonalait is tartalmazza. A vonalak félértékszélessége a kis nyomásnak köszönhetően kisebb, mint az atmoszférikus nyomáson működő atomforrások abszorpciós vonalszélessége, így teljesül a monokromatikussági feltétel. A 2.5.3.3. ábra VKL-spektrumokat mutat be. A vonalszegény spektrumot adó elemeknél, 1 nm-es monokromátor spektrális sáv szélesség elegendő, de a vonaldús spektrumot adó elemeknél kisebb, 0,1 nm-es spektrális sáv szélesség szükséges.



2.5.3.3. ábra. Vájtkatódú lámpa spektrumok

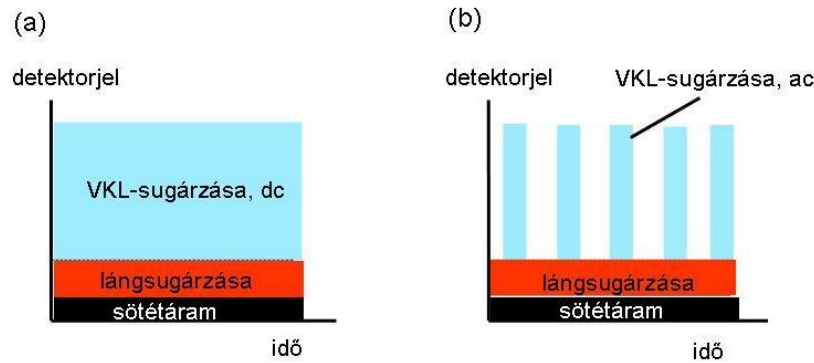
A vájtkatódú lámpák általában egyelemesek, de egyszerűbb spektrumú elemekre (Ca, Mg stb.) készítenek többelemes lámpákat is. A fényforrásokra megadott maximális áramot nem szabad túllépni. Az áramerősséggel változik a fényerő, a vonalszélesség és a lámpán belüli önabszorpció, és ezzel az AAS-meghatározás analitikai jellemzői is, ezért az áramerősséget az adott készülékre kell optimalni. A vájtkatódú lámpák élettartama korlátozott, mert a töltőgáz atomjait befogja a lecondenzálódó atomgőz. Ha a nyomás kritikus érték alá csökken, megszűnik a kisülés. A fényforrást áramstabilizált tápegységgel kell működtetni.

A vájtkatódú lámpák egyik nagy problémája, hogy az áramerősséget növelve növekszik az intenzitás, de a katódporlasztás is fokozódik, ami vonalszélesség növekedéshez, önabszorpcióhoz és végső soron lehajló kalibrációs görbékhez vezet. Ez a jelenség az illékony elemek (As, Se, Tl, Te stb.) lámpáira különösen jellemző. Ezekben az esetekben a rádiófrekvenciás, elektród nélküli kisülési lámpákat (EDL) vagy a gerjesztést javító, segédkisüléssel is ellátott, ún. szuper, vájtkatódú lámpákat használhatjuk. Mindkét fényforrás külön tápegységet igényel.

A VKL-AAS-készülékekben közepes felbontású, rácsos monokromátort és a 185–850 nm tartományban érzékeny multialkáli fotokatódos fotoelektron-sokszorozót használunk. A fotoelektron-sokszorozó a fényintenzitással arányos áramjelet szolgáltat, az erősítés beállítása a fotoelektron-sokszorozó nagyfeszültségének szabályozásával történik. A jelfeldolgozó egységben történő folyamatokat a 2.5.3.4. ábra szemlélteti. Az AAS-mérés detektorjele három komponensből:

- a sötétáramból,
- a lángsugárzásából vagy a grafitkemence termikus sugárzásából és
- a vájtkatódú lámpa sugárzásából tevődik össze.

Az analitikai információt a vájtkatódú lámpa jelének változása hordozza ezért azt el kell választani a másik két komponensről. Ez a vájtkatódú lámpa sugárzásának modulálásával, a nem modulált (dc) és modulált (ac) komponens elektronikus elválasztásával történik.



2.5.3.4. ábra. Az AAS-mérés detektorjele lámpaintenzitás-modulálás nélkül (a) és lámpaintenzitás-modulálással (b)

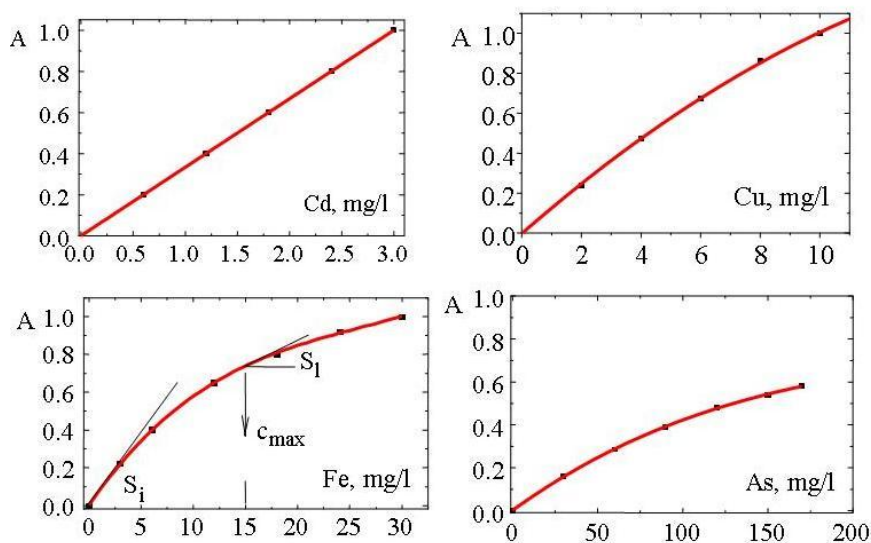
Az atomabszorpciós elemzésben az abszorbancia (A) és a szabadatom koncentráció c_{atom} között lineáris függvénykapcsolat van, amely formailag azonos a Lambert-Beer törvénnyel.

$$A = a \cdot l \cdot c_{atom}$$

$$A = k \cdot a \cdot l \cdot c_s$$

A gyakorlatban a szabadatom-koncentrációt nem ismerjük, csak az atomforrásba bevitt oldat koncentrációját (c_s). Az atomforrás ideális esetben az oldatkoncentrációval arányos szabad atom koncentrációt állít elő, ezért az összefüggés az atomizálást jellemző k állandóval bővül.

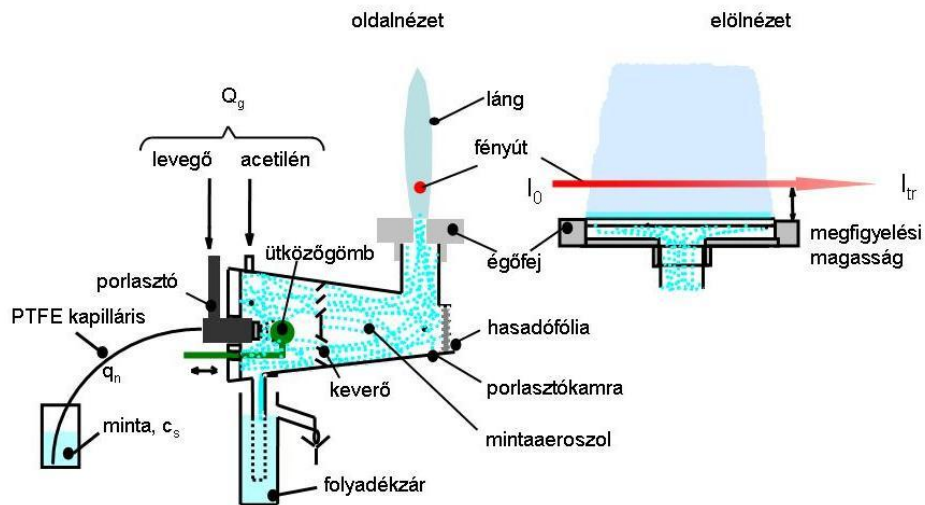
A monokromatikus feltétele, a fényforrás és a monokromátor tökéletlensége miatt, nem minden esetben teljesül maradéktalanul, melyet a 2.5.3.5. ábra lehajló kalibrációs görbéi mutatnak. A gyakorlatban a $c_s - A$ kalibrációs pontpárookra az origón átmenő másod- vagy harmadfokú polinomot, vagy más alkalmas függvényt illesztünk és azzal végezzük a mintákkal mért abszorbanciák átszámítását koncentrációra. Az AAS-mérést jellemző lehajló kalibrációs görbék meredeksége (érzékenység) és ezzel a koncentráció skálafelbontása is csökken a koncentráció növekedésével, amely a szórás arányos növekedését okozza. A maximális koncentráció c_{max} kijelölése az $S_1 = S_i/3$ összefüggést szerinti érintő szerkesztéssel történhet, ahol S_1 a lokális meredekség és S_i a kezdeti meredekség (ld. Fe-kalibrációs görbe). A határok kijelölésénél figyelembe vesszük, hogy AAS-mérések szórása a 0,1–0,9 abszorbanciatarományban a legkedvezőbb.



2.5.3.5. ábra. Különböző elemek atomabszorpciós kalibrációs görbéi

2.5.4. Láng-atomabszorpciós módszer

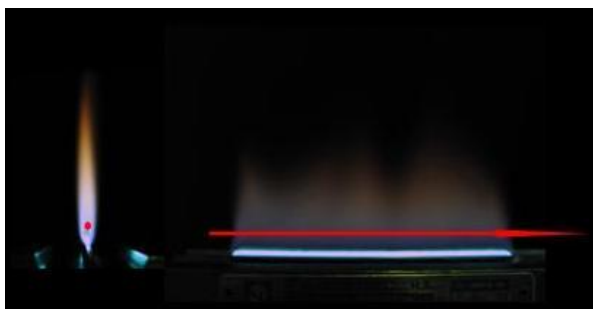
A láng-AAS-módszer esetén az atomizálás előkevert lamináris lángban történik. Az oldatmintát pneumatikus porlasztással aeroszollá alakítjuk és a lánggázokkal elkeverve, állandó sebességgel juttatjuk be a lángba. A láng hőmérsékletén (2000–2900 °C) a kb. 10 m/s sebességgel áramló lánggázokban a minta komponensei elpárolognak, disszociálnak és kialakul az oldatkoncentrációval arányos, stacioner szabadatom-koncentráció. A láng-AAS-készülékben az ún. **porlasztó-égő egység** és az azt kiszolgáló gázadagoló egység alkotja a lángatomizáló egységet (2.5.4.1. ábra és 2.5.4.2. ábra). A pneumatikus porlasztó a mintát polietilén kapillárison keresztül szívja fel egyenletes q_n sebességgel. A primer aeroszol még nagy sebességgel mozgó cseppjei a porlasztó elé helyezett gömbnek ütközve tovább aprítódnak. A műanyagból készült porlasztókamrában az aeroszol egyrészt elkeveredik az éghető és az égést tápláló gázzal, másrészt ülepedéssel és ütközéssel a nagyobb átmérőjű cseppek eltűnnek az aeroszorból. A kondenzátum a folyadékszár keresztül távozik, míg az aeroszol a lánggázokkal együtt az égőfejen áthaladva belép a lángba.



2.5.4.1. ábra. A láng-AAS-készülék porlasztó-égő egységének felépítése



2.5.4.2. ábra. A láng-AAS-készülék porlasztó-égő egységének fényképe



2.5.4.3. ábra. A 10 cm-es levegő-acetilén láng képe oldal- és előlnézetben

Az AAS-méréshez ún. réses égőket, hosszú, keskeny lángokat használunk 5–10 cm-es hosszúsággal. A 2.5.4.3. ábra két nézetben mutatja a 10 cm hosszú levegő acetilén lángot.

Ezzel a lánggeometriával érjük el, hogy a szabadatomok nagyobb része a fényforrás keskeny sugárnyalábja által határolt térbe kerüljön. Az égőfejeket hőálló és korrózióálló anyagból (titán, saválló acél) készítik, fontos szempont az is, hogy az égőfej hűtése is megfelelő legyen. Az égőfej cserélhető, egy adott égőfej meghatározott gázelegyekkel használható. Hibás működtetés esetén a lángfront beléphet a porlasztókamrába és robbanást okozhat. Ez a veszély a dinitrogén-acetilén láng esetén a legnagyobb, ezért gondosan be kell tartani a működtetésre vonatkozó szabályokat és célszerű a hibás kezelést kizáró ún. biztonsági gázadagoló egységet használni. A károsító hatásokat a hasadófólia vezeti le.

Ha a porlasztásos mintabevitel anyagmérlegét, a porlasztási hatásfokot η , a párolgás hatásfokát α , az atomizálás hatásfokát β és az ionizáció fokát γ is figyelembe vesszük a láng-atomabszorpciós módszer analitikai függvényében a közetkező összefüggést kapjuk:

$$A = a \cdot l \cdot \eta \cdot \alpha \cdot \beta \cdot (1 - \gamma) \cdot \frac{c_{old} \cdot q_n}{Q_g},$$

ahol a az abszorpciós koefficiens,

l a megfigyelési hossz,

q_n a felszívási sebesség,

Q_g a gázsebesség és

c_{old} az oldatkoncentráció.

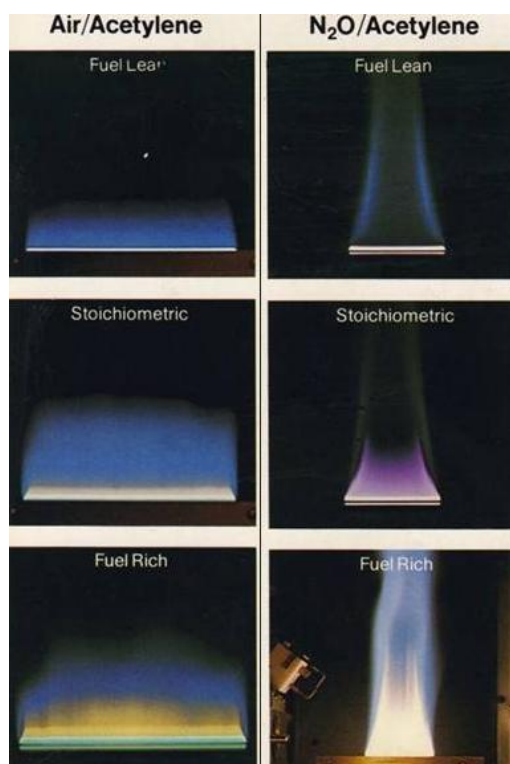
Az összefüggés ilyen kibővített felírása azért hasznos, mert felhívja a figyelmet arra, hogy az oldatkoncentráció mellett számos egyéb tényező is befolyásolja a mért abszorbanciát. A faktorok abszolút értéke befolyásolja az érzékenységet, a mátrixfüggő változások pedig módszeres hibát okozhatnak. Az ilyen változásokat hívjuk zavaró hatásoknak.

A lángot a vizsgált elem és a mátrix tulajdonságai szerint választjuk meg a 2.5.4.1. táblázat útmutatásai szerint. A táblázatban a kövér szedés jelöli az elsődlegesen ajánlott lángot. A másodsorban ajánlott láng akkor használható, ha nincsenek zavaró hatások. A különböző beállítású, oxidáló, sztöchiometrikus és redukáló levegő-acetilén és dinitrogén-oxid-acetilén láng képét a 2.5.4.4. ábra mutatja.

Leggyakrabban a levegő-acetilén lángot használjuk. A láng tulajdonságai változnak a megfigyelési magasság és a lángösszetétel (az éghető gáz térfogati sebessége) függvényében. Mivel a két tényező nem független egymástól, az optimálásnál minden megfigyelési magasságnál meg kell vizsgálni az összetétel hatását.

levegő-propán láng	levegő-acetilén láng	dinitrogén-oxid-acetilén láng	argon-hidrogén láng
Li, Na, K, Rb, Cs	As, Au, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Hg, In, Ir, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Pd, Pt, Rb, Rh, Ru, Sb, Sn, Sr, Tl, Zn	Al, B, Ba, Be, Ca, Dy, Er, Gd, Ge, Hf, Ho, La, Lu, Nb, Nd, Os, Pr, Re, Sc, Si, Sm, Sr, Ta, Tb, Te, Ti, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zr	As, Se, Sn

2.5.4.1. táblázat. Láng megválasztása AAS-meghatározáshoz



2.5.4.4. ábra. Különböző beállítású, oxidáló (fuel lean), sztöchiometrikus és redukáló (fuel rich) levegő-acetilén és dinitrogén-oxid-acetilén láng képe

VIDEÓ



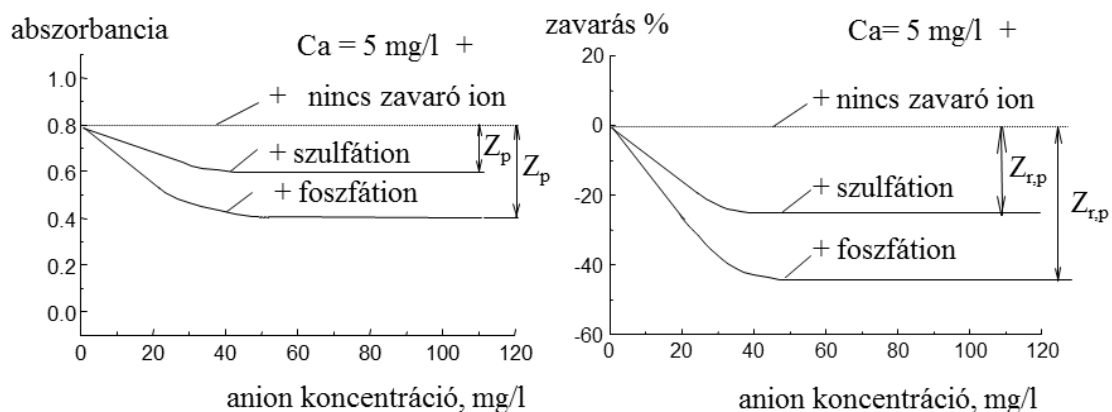
2.5.4.1. videó: Dinitrogén-oxid – acetilén láng benyújtása

Az AAS-módszerek zavaró hatásait úgy értelmezzük, mint a c_z koncentrációjú zavaró anyag hatására bekövetkező abszorbanciaváltozást konstans analit koncentráció mellett. Gyakran a zavarásmentes állapot jelére vonatkoztatva számítjuk az ún. relatív zavarást, amely közvetlenül mutatja az analitikai hiba nagyságát.

A zavarások mechanizmusa szerinti csoportosításban beszélünk:

- mintabeviteli zavarásról,
- párolgási zavarásról,
- ionizációs zavarásról és
- háttérzavarásról.

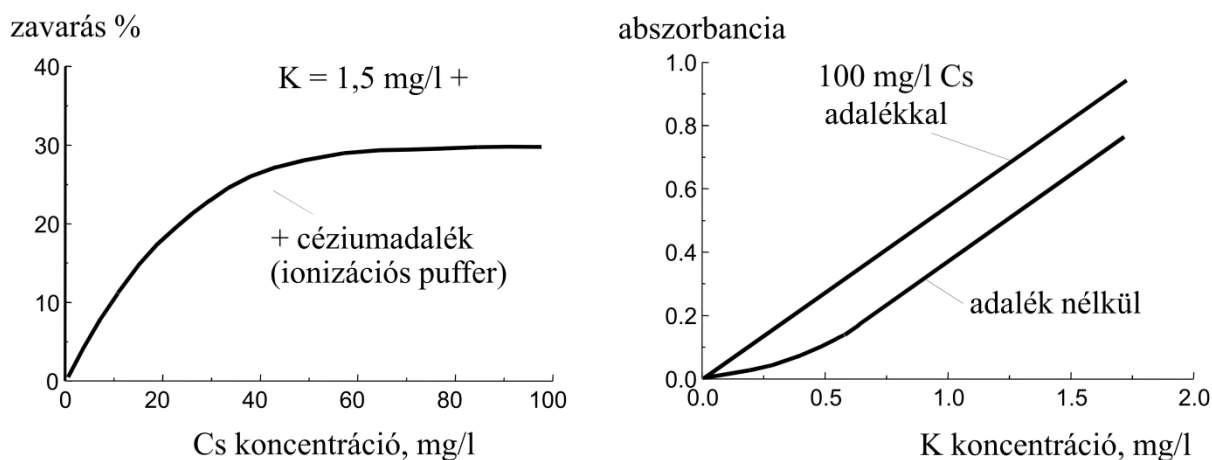
A mintabeviteli zavarás az oldat fizikai tulajdonságainak, a sűrűség, a felületi feszültség és a viszkozitás változására vezethető vissza, és a felszívási sebesség és a porlasztási határfok megváltozásával jár (pl. alkoholtartalmú minták, cukorszirupot tartalmazó minták). A párolgási zavarás egyik esete, amikor a mérendő és zavaró komponens nehezen párolgó vegyületet képez, amely csak részlegesen párolg el az adott körülmények között. Ez a hatás már kis zavaróanyag-koncentrációnál is számottevő lehet. A másik eset, amikor nincs vegyületképződés, de a nagy koncentrációjú, kis illékonyságú mátrix lerontja az analit párolgását.



2.5.4.5. ábra. Szulfát- és foszfátzavarás kalcium meghatározásakor levegő-acetilén lángban

Ionizációs zavaró hatás akkor jelentkezik, ha az analit részlegesen ionizálódik az adott körülmények között, és a mátrixban lévő, könnyen ionizálódó elem jelentősen megváltoztatja a láng elektron-koncentrációját, és ezen keresztül az analit ionizációját. A háttérzavarás a mátrix háttérabszorpciója miatt alakul ki.

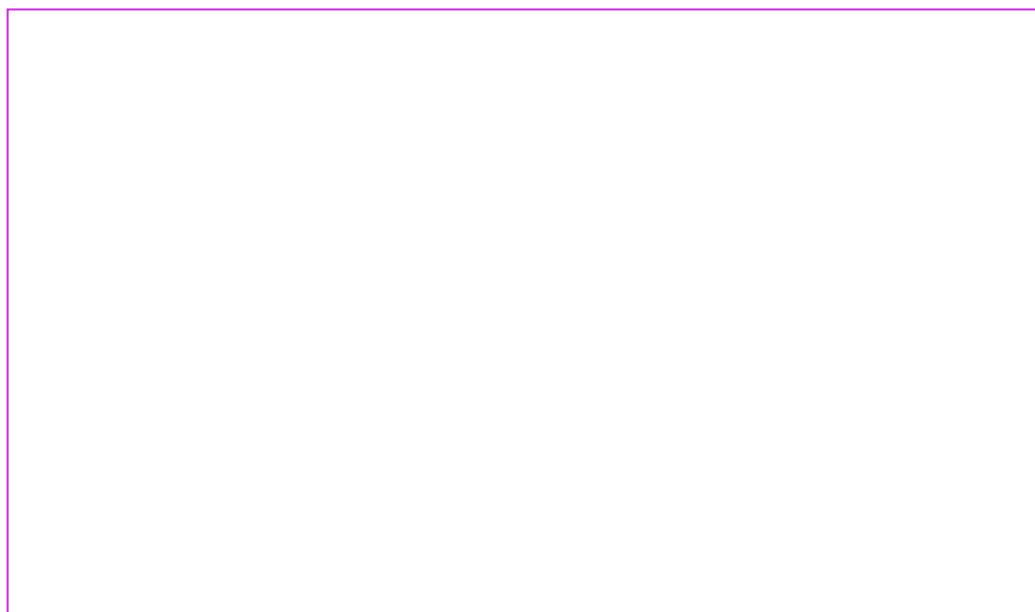
A zavarások tanulmányozására általában a vizsgált elemből és a zavaró komponensből összeállított modelloldatokat használhatunk. Ha kalcium-klorid oldathoz foszfátiont vagy szulfátiont adagolunk, a kialakuló termikusan stabil vegyületek párolgási zavarást okoznak levegő-acetilén lángban (2.5.4.5. ábra). A zavaró hatás kiküszöbölhető $\text{LaCl}_3 + \text{HCl}$ adalékkal, illetve dinitrogén-oxid-acetilén láng alkalmazásával is. Az ionizációs zavarás levegő acetilén lángban az alkálifémeknél lép fel, de dinitrogén-oxid-acetilén lángban sok elemnél számottevő, ilyen esetben 2000 mg/l koncentrációjú káliumadalék használata ajánlott. Az ionizációs zavarás vizsgálatánál azt észleljük, hogy az atomvonalakon mért jel egy határértékig növekszik a könnyen ionizálódó mátrixelem, illetve adalék, ionizációs puffer hatására (2.5.4.6. ábra). A határérték elérése az ionizáció visszaszorulását jelzi. Az adalék koncentrációját úgy választjuk meg, hogy a vízszintes szakaszon legyünk. Az ionizáció hatása a kalibrációs egyenesen is megjelenik.



2.5.4.6. ábra. Céziум ionizációs puffer hatása kálium meghatározásakor levegő-acetilén lángban és kálium kalibrációs görbéje céziумadalékkal és adalék nélkül

A zavarást kiküszöbölő adalékokat (LaCl_3 , Cs^+ , K^+) azonos koncentrációban kell a mintához és a standard oldatokhoz adagolni. Az adagolás on-line is elvégezhető kétcsatornás perisztaltikus pumpával, ami jelentősen csökkenti a művelet munkaigényét és minimalizálja a vegyszerfelhasználást.

VIDEÓ

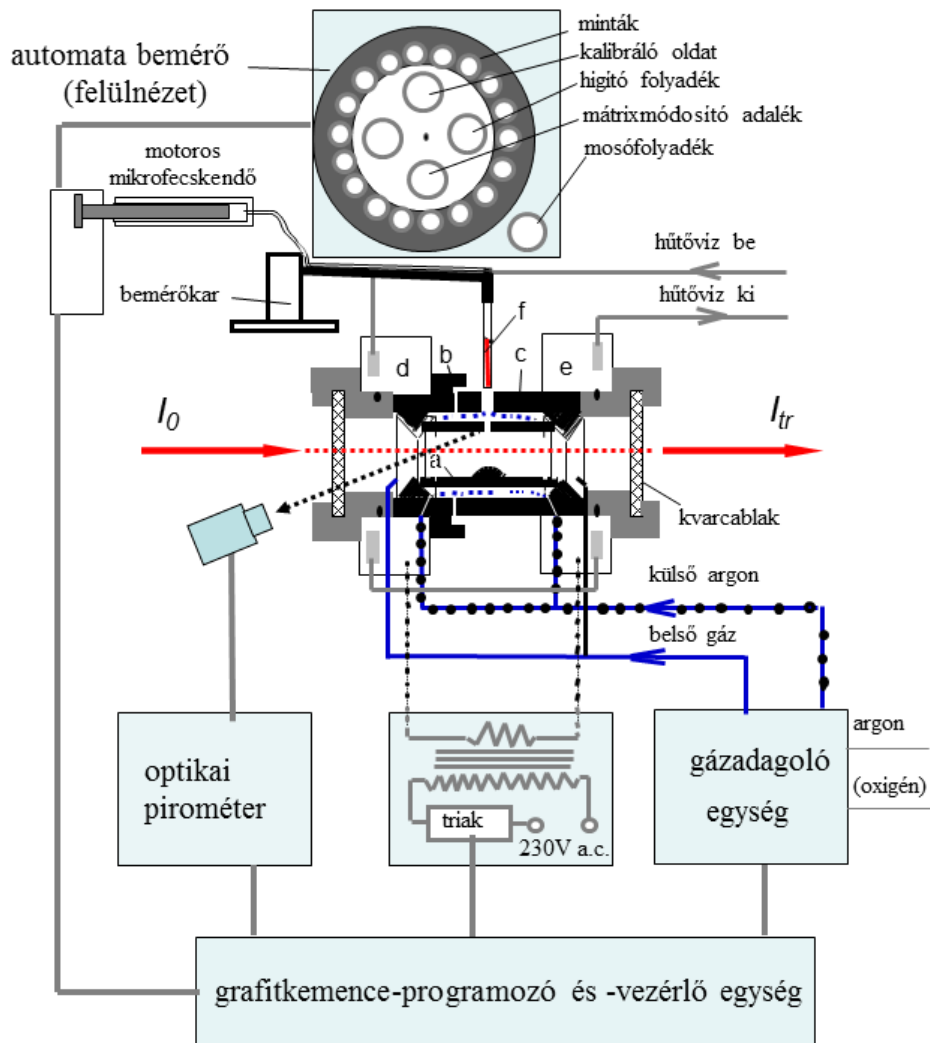


2.5.4.2. videó: Láng-atomabszorpciós elemzés, mangán meghatározása mészkő mintában

2.5.5. *Elektrotermikus atomizálás, grafitkemence atomabszorpciós módszer (GK-AAS)*

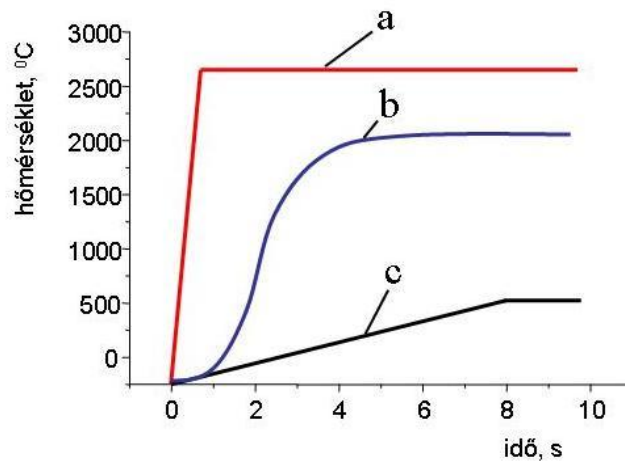
A L-AAS- és az ICP-OES-módszer kimutatási határai a nagyon toxikus elemek meghatározására (As, Cd, Pb, Tl, Te, Se) sok esetben nem kielégítők. Ilyen esetekben a két-három nagyságrenddel jobb kimutatási határokat biztosító grafitkemence atomabszorpciós módszerrel tudjuk az elemzést elvégezni. A GK-AAS-módszer kedvezőbb kimutatási képessége arra vezethető vissza, hogy a grafitkemence atomizálóban sokkal kisebb mértékű a minta hígulása az atomizálási folyamatban, mint lángatomizálásnál.

A GK-AAS-készülék felépítését és a fontosabb funkcionális egységeket a 2.5.5.1. ábra szemlélteti. A grafitcső (a) a bal (b) és a jobb (c) oldali kúpos belső illeszkedésű grafit segédelektrodok közé kerül, melyek kívülről körülölelik a grafitcsövet, hogy biztosítható legyen az argon védőatmoszféra. A segédelektrodok szoros illesztéssel ülnek a vízhűtéses bal és jobb oldali (d, e) fémtestben (az elektródcsere speciális szerszámmal történik). A jobb oldali rész nyitható, biztosítva ezzel a grafitcső cseréjét. A zárás állandó erővel történik pneumatikusan vagy rugóerővel, amely megenged egy kevés elmozdulást a cső felfűtésekor bekövetkező méretváltozás követésére. Az egymástól elektromosan elszigetelt fémtestek nagy keresztmetszetű elektromos kábelon keresztül csatlakoznak a teljesítményvezérlő egység transzformátorának szekunder tekercséhez (0–20 V ac.) A teljesítményszabályozás a transzformátor primer oldalán történik teljesítménytriakkal (félvezető, váltóáramú teljesítményszabályzó), feszültség, illetve hőmérséklet visszacsatolásos üzemmódban.



2.5.5.1. ábra. Grafitkemence mérőfej és a műszer főbb egységei

A hőmérsékletvisszacsatolt üzemmóddhoz, amely a nagyon gyors felfűtést is lehetővé teszi, mérni kell a csőfal pillanatnyi hőmérsékletét is. A hőmérséklet mérése infravörös optikai pirométerrel történik. A készülék programvezérlő egysége a gázadagoló egység, a hőmérsékletmérő egység és a teljesítményszabályzó egység megfelelő működtetésével valósítja meg a beírt GK-programot. A grafitcső fűtésére általában három üzemmódot használunk (2.5.5.2. ábra). A gyorsfűtés üzemmódban maximális teljesítménnyel fűtünk a programozott hőmérséklet eléréséig, így tudjuk elérni a legnagyobb jelet. A normál üzemben a fűtőteljesítményt állítjuk be, a felfűtés sebességét nem szabályozzuk. A lassú fűtés üzemmódban a fűtési sebességet szabályozzuk, elsősorban a szárítási és a hőkezelési szakaszban, hogy a folyamatok lefutásához kellő időt hagyjunk.

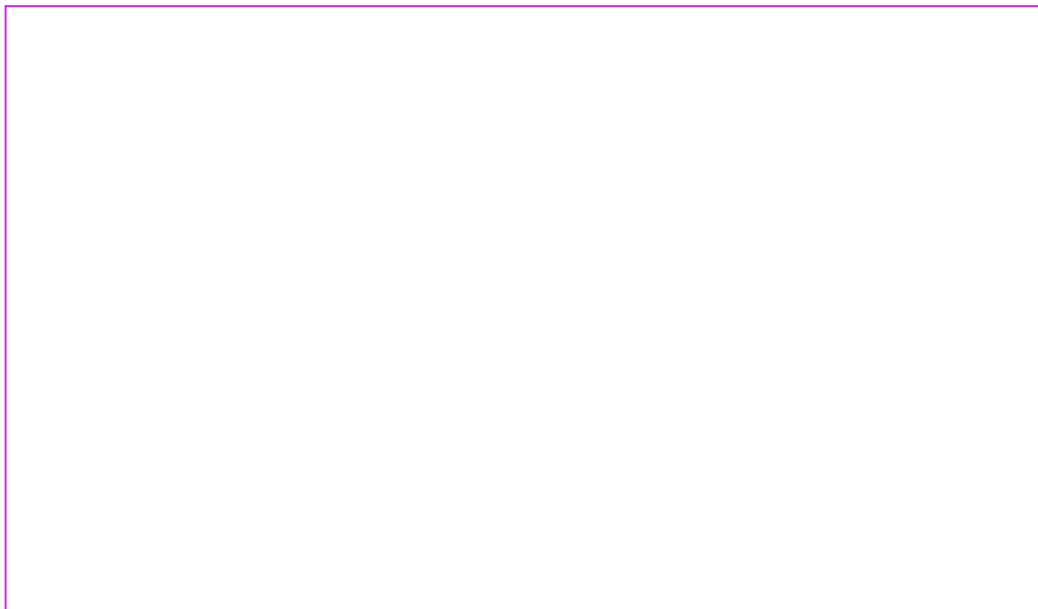


2.5.5.2. ábra. Grafitkemence fűtémódjai:

- (a) gyors fűtés, általában maximális teljesítménnyel fűtünk a kívánt hőmérséklet eléréséig,
(b) normál fűtés, a fűtési sebesség nem szabályozott,
(c) lassú fűtés, a fűtési sebességet szabályozzuk (szárítás, hőkezelés)

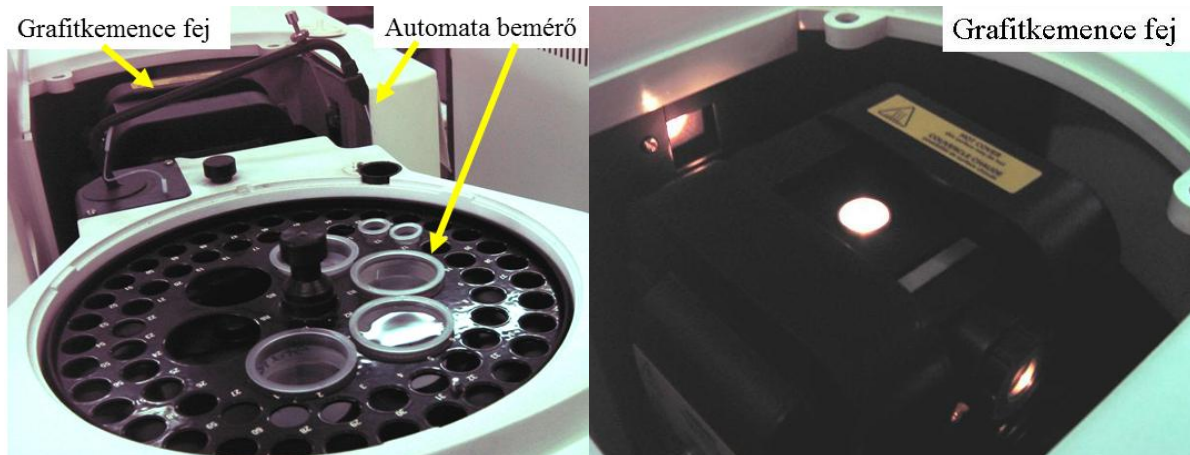
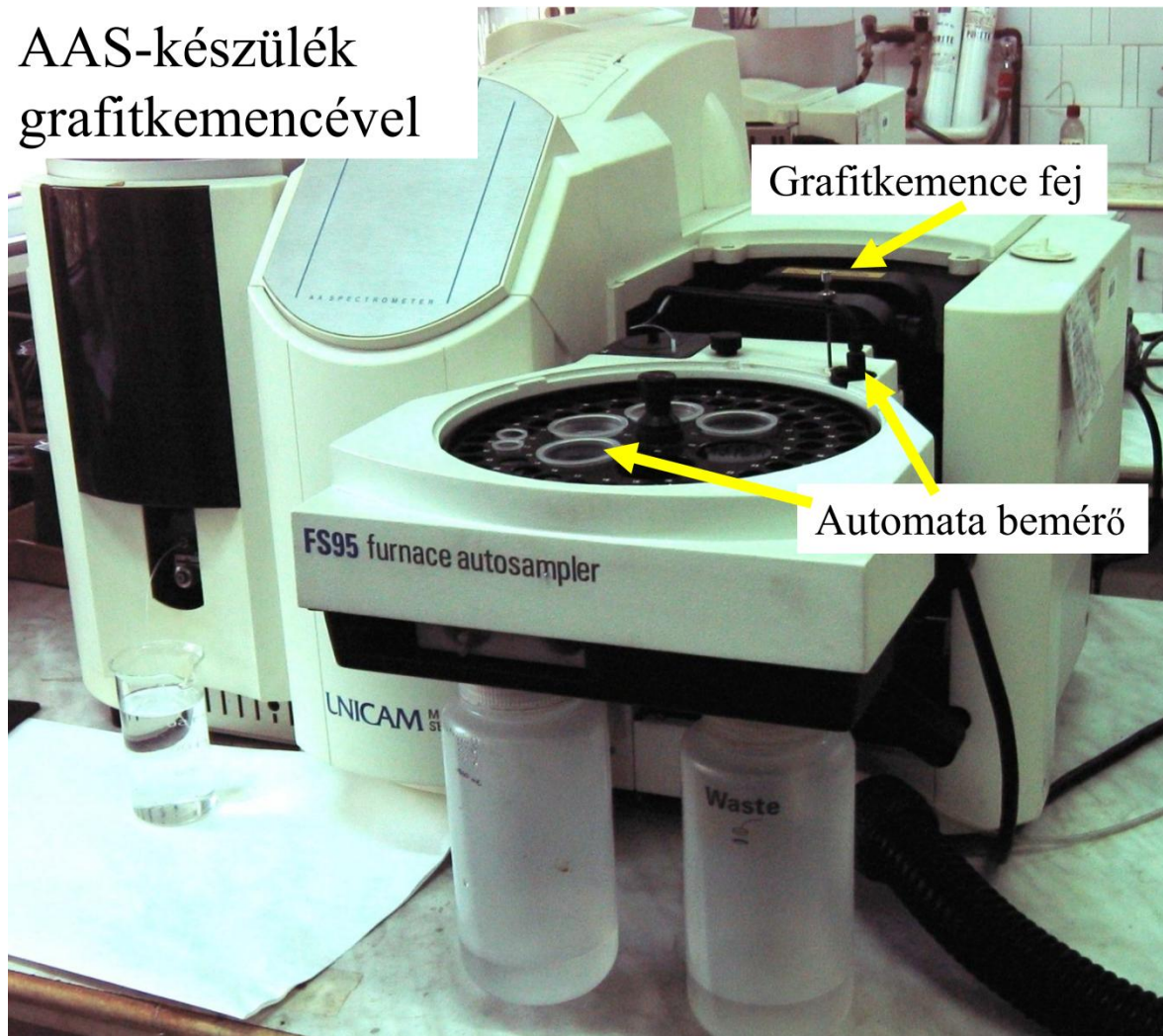
Az argon védőgáz a bemutatott konstrukcióban két külön ágon jut be a GK-fejbe. A külső argon a grafitcső külső része és a segédelektrodok közt áramlik, a belső argon az ablakok felől a cső belseje felé áramlik és a bemérő nyíláson lép ki. Mivel a belső gáz minősége és áramlási sebessége alapvetően befolyásolja a belső térben lejátszódó folyamatokat, ezt a gázáramot a programlépés céljához igazodóan célszerű vezérelni. A grafitkemence belső terét, tisztítási célból kivethető kvarcablakok határolják le.

VIDEÓ



2.5.5.1. videó: Grafitkemence AAS elemzés, ólom meghatározása

AAS-készülék grafitkemencével



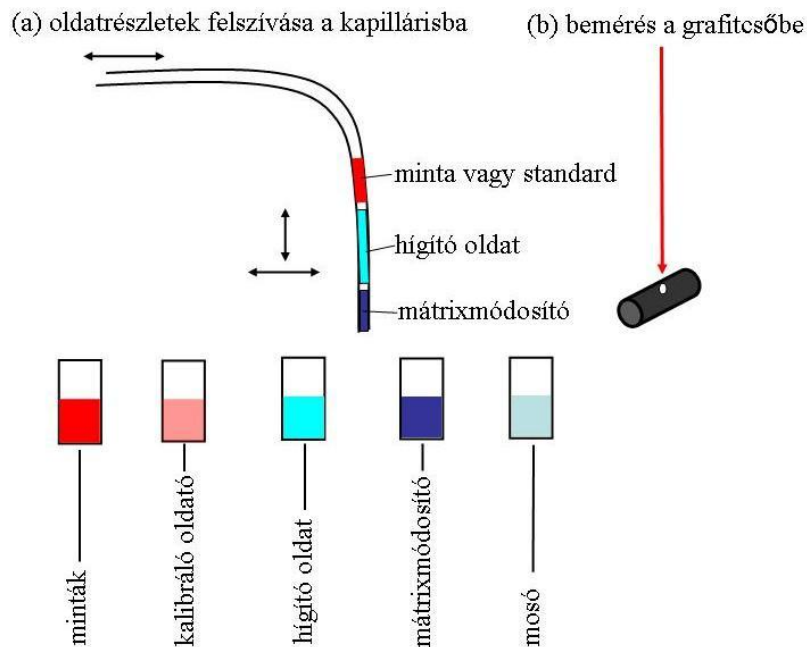
2.5.5.3. ábra. Grafitkemence AAS-készülék

A minta bemérése a grafitcsőbe készülékhez illesztett automata bemérővel történik (2.5.5.1. ábra és 2.5.5.3. ábra). Az ábrán feltüntettük az automata bemérő főbb egységeit is. A mintát a bemérő karral mozgatott kb. 1 mm átmérőjű PTFE (teflon) kapillárisba szívjuk fel, majd a grafitcső 1,3 mm átmérőjű bemérő nyílásán keresztül a cső aljára vagy a csőbe helyezett mintatartó betétre (platform) mérjük be. Az adott térfogatú folyadék felszívását léptetőmotorral működtetett mikrofecskendő végzi. A bemérő kar mozgatása olyan, hogy eléri a mintaváltó rész különböző funkciójú edénykeit (mintatartók,

mosófolyadék, kalibráló oldat, hígító oldat, mátrixmódosító adalék). Az automata bemérő a programozó segítségével nemcsak egyszerű bemérést végezhet, hanem képes:

- kalibráló oldatsorozat kisebb koncentrációjú tagjainak előállítására hígítással,
- mátrixmódosító adalék bevitelére a mintákba, illetve kalibráló oldatokba és
- az addíciós kalibráláshoz szükséges minta és kalibráló oldat együttes bemérésére is.

Mindegyik funkció kombinálható az adalék bevitellel, illetve hígítással is (2.5.5.4. ábra).



2.5.5.4. ábra. A grafitkemence automata mintabemérőjének működése

A grafitkemence program funkcionálisan, minimálisan négy lépésből áll. Az egyes lépésekben megválasztható:

- a hőmérséklet,
- a fűtési sebesség,
- a hőmérséklettartás ideje,
- a fűtési mód (feszültség vagy hőmérsékletvisszacsatolás),
- a belső gáz minősége (argon, levegő, oxigén),
- a belső gáz térfogati sebessége,
- a jelmérési szakasz kijelölése.

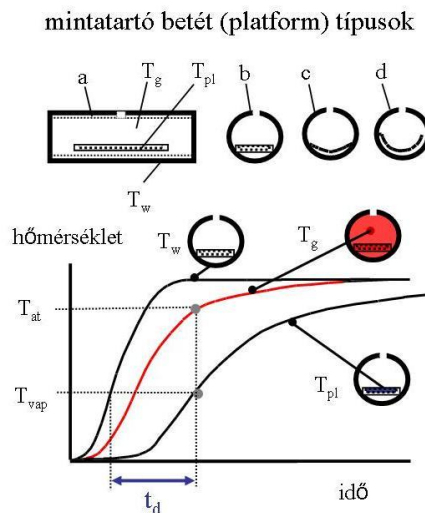
A program főbb szakaszai

- 1. Szárítási szakasz** (105–150 °C, 10–20 s) – az oldószert elpárologtatjuk a bemért oldatcseppből. A folyamat végén az oldat száraz maradéka található a grafitcsőben.
Optimálás: vizuálisan megfigyeljük a minta száradását (tükör vagy kamera).
- 2. Hőkezelési szakasz** (350–1200 °C, 10–20 s) – a mintában található szerves anyagot hamvasztjuk el, illetve elpárologtatjuk az illékony szerves komponenseket. A szakasz hőmérsékletét és időtartamát úgy kell optimalni, hogy az illékony komponensek eltávolítása minél tökéletesebb legyen, de a vizsgált komponensből ne legyen veszteség.
Optimálás: hőkezelési görbe felvétele a mintával. Indirekt módon a hőkezelési hőmérséklet függvényében vizsgáljuk az atomizálási szakaszban kapott jel nagyságát. A jel csökkenése a hőkezelési szakaszban bekövetkezett analit veszteségre utal.
- 3. Atomizációs szakasz** (1200–2800 °C, 3–7 s) – a megelőző szakaszokban előkezelt minta elpárologtatása és atomizálása történik. A szabadatomfelhő koncentrációja gyorsan emelkedik

a hőmérséklet gyors változását követve, de egyidejűleg megindul a szabadatomok diffúziója az alacsonyabb hőmérsékletű térbe. A két folyamat eredőjeként tranziens atomkoncentráció és tranziens abszorbanciajel alakul ki. Ha a szabadatomok keletkezési sebessége és a diffúziós sebesség állandó, az adott koncentrációhoz tartozó abszorbancia csúcsmagassága (A_p) és a csúcsterület (A_i) arányos az analit tömegével. A csúcsterület kevésbé függ a mátrix összetételével jelentősen változó párolgási sebességtől.

Optimálás: az atomizálási hőmérsékletet változtatva vizsgáljuk az atomizálási szakaszban kapott jelet.

4. **Tisztítási szakasz** (2000–2800 °C, 2–5 s) – feladata a csőben visszamaradó anyagok tökéletes eltávolítása, hogy a csőben a következő minta bemérése megtörténhessen.



2.5.5.5. ábra. A mintatartóbetét szerepe az atomizálásban. Mintatartóbetét típusok és behelyezésük: (a) grafitcső, (b) sík betét (L von platform), (c) ívelt betét, (d) beépített, ívelt betét. A különböző zónák hőmérsékletének változása az idő függvényében: a csőfal hőmérséklete, T_w ; a gáztér hőmérséklete, T_g ; a mintatartóbetét hőmérséklete, T_{pl} . A platform hőmérsékletkésleltetése, t_d

A grafitkemencében akkor ideálisak az atomizálás feltételei, ha

1. a gáztér hőmérséklete magas,
2. a minta párolgása akkor következik be, amikor a gáztér hőmérséklete elegendően magas az atomizáláshoz és
3. kicsi a minta szabadatomjainak kiürülési sebessége.

Ezek a feltételek úgy közelíthetők legjobban, ha nagy sebességű fűtést (2000 °C/s), késleltetett minta elpárologtatást (platform) és nulla öblítő gáz sebességet használunk (gáz stop). A mintaelpárologtató késleltetését különböző típusú mintatartóbetétekkel (2.5.5.5. ábra):

- sík betét,
- ívelt betét,
- beépített ívelt betét érjük el.

A mintatartóbetét fűtése közvetett, ezért a hőmérséklet emelkedése lassabb, mint a csőfalé vagy a gáztéré.

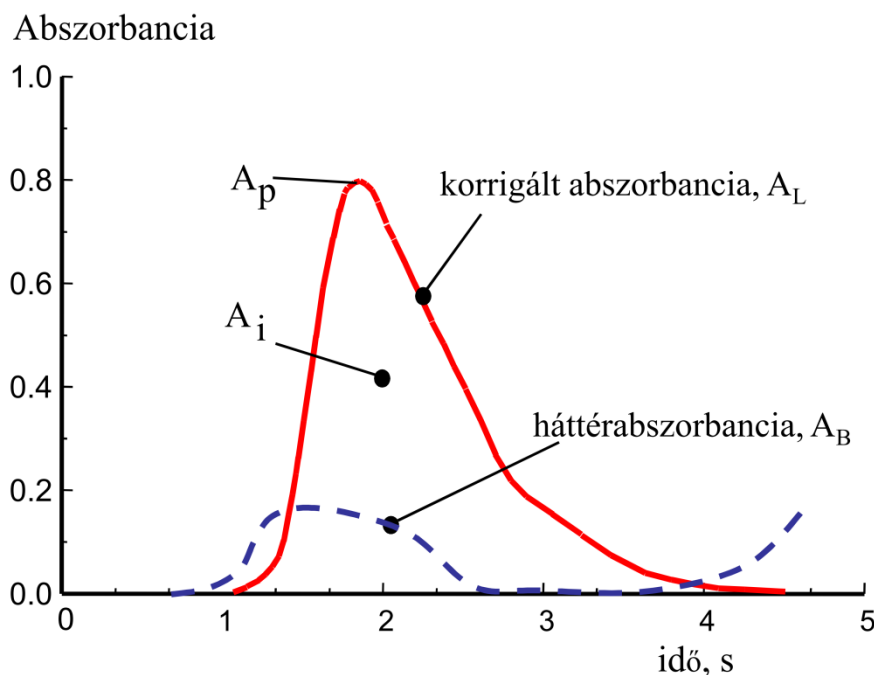
Ha az atomizálás a csőfalról történik és a vizsgált elem vegyületei viszonylag illékonyak (T_{vap}), a komponens molekuláris párolgása (MO, MX) olyan időpillanatban történik, amikor a gázhőmérséklet, (T_g) még nem kellően magas az atomizáláshoz. Ennek az a következménye, hogy a molekulák atomizálódás nélkül elhagyják a nagy hőmérsékletű teret és nem vagy csak kisebb analitikai jelet kapunk. A mintatartóbetét biztosítja, hogy

- a minta végig a cső közepén maradjon,
- és azt is, hogy a minta csak akkor párologjon el, amikor a gáztér hőmérséklete már elegendően nagy az atomizáláshoz.

Ha a vizsgált elem nem képez illékony vegyületeket, a csőfalról történő atomizálás is megfelelő eredményeket szolgáltat.

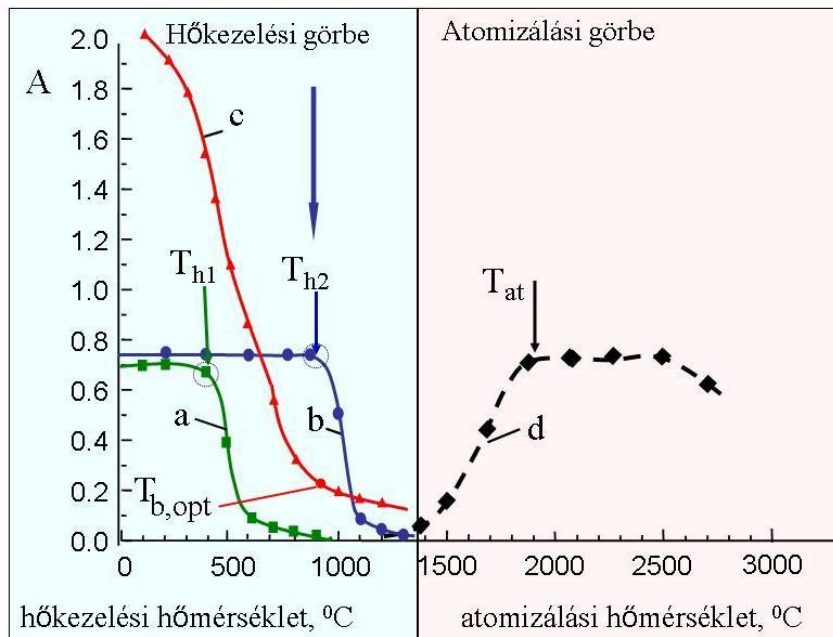
A grafitkemence atomizáló a termikus szabadatom keletkezés és a diffúziós, illetve konvektív kiürülés egyensúlyaként látható tranziens jelet a 2.5.5.6. ábra mutatja. Az abszorbanCIASÚCS mennyiségi jellemzésére használhatjuk a csúsmagasságot (A_p), illetve a csúcsterületet (A_i). A gyakorlatban az elemzés során a csúsmagasságot és a csúcsterületet is mérjük, de ha nincsenek kizáró okok, akkor a koncentráció-csúcsterület kalibrációs függvényt használjuk.

Reális minták elemzésekor a szabadatomok mellett a mátrixból molekulák, illetve részecskék is keletkeznek a nagy hőmérsékletű teret elhagyó gőzökből, amely háttérabszorpciót, sávos abszorpciót, illetve fényszórást eredményez. A vonalas atomabszorbanCIA (A_L) és a szélesebb spektrumtartományban jelentkező háttérabszorbanCIA (A_B) az eltérő spektrális jellemzők alapján megkülönböztethető. A vajtkatódú lámpával mért A_{L+B} jel korrekciójával $A_L = A_{L+B} - A_B$ (deutérium lámpás, illetve Zeeman háttérkorrekció) a korrigált abszorbanCIAjel előállítható. A háttérkorrekciót különböző hibák terhelik, ezért nem közömbös, hogy mekkora az A_B abszorbanCIA a jelhez viszonyítva. A hőkezelési program kidolgozásakor, az adalékok kiválasztásakor arra törekszünk, hogy a háttérabszorbanCIÁT elfogadható kicsi értékre csökkentsük. A korszerű készülékek megjelenítik, illetve tárolják a korrigált abszorbanCIA és a háttérabszorbanCIA tranziens jeleket, ami módot ad a módszer tudatos optimalizálására, az elemzési körülmények ellenőrzésére.



2.5.5.6. ábra. Grafitkemencés elemzés jelei, korrigált abszorbanCIA és háttérabszorbanCIA

A grafitkemencés módszer kidolgozása során a különböző hőmérsékleti szakaszokat optimalizáljuk. A szárítási szakaszban főleg vizuális megfigyeléseket teszünk. A hőkezelési és atomizálási szakaszt az atomizálási szakaszban megfigyelt korrigált abszorbanCIA (A_L), és háttérabszorbanCIA (A_B), a hőkezelési hőmérséklet (T_h), illetve az atomizálási hőmérséklet (T_{at}) függvényében történő ábrázolásával kapott hőkezelési és atomizálási görbékkel jellemezzük, és ezeket felhasználva állapítjuk meg az optimális hőkezelési és atomizálási hőmérsékletet (2.5.5.7. ábra).



2.5.5.7. ábra. Kadmium grafitkemencés hőkezelési és atomizálási görbéi: (a, zöld görbe) adalék nélkül felvett hőkezelési görbe A_L-T_h , (b, kék görbe) palládium-magnézium mátrixmódosító adalékkal felvett hőkezelési görbe A_L-T_h , (c, piros görbe) a háttérabszorbancia változása a hőkezelési hőmérséklet függvényében A_B-T_h , (d) és az atomizálási görbe

A hőkezelési görbék értékelése úgy történik, hogy meghatározzuk az adott körülmények között maximálisan megengedhető hőkezelési hőmérsékletet (T_{h1} , T_{h2}) és összevetjük a kedvező, kis háttérabszorbanciához tartozó hőkezelési hőmérséklettel ($T_{b,opt}$). A hőkezelés akkor kedvező, ha $T_{h,opt} > T_{b,opt}$, mert a T_{h1} -nél még túl nagy a háttérabszorbancia.

A 2.5.5.7. ábra által bemutatott példában csak palládium-magnézium mátrixmódosító adalék jelenlétében lehetett a kedvezően alacsony háttérabszorbanciát úgy elérni, hogy a kadmiumot ne veszítsük el a hőkezelési szakaszban. A leggyakrabban használt mátrixmódosító adalékokat a 2.5.5.1. táblázatban adjuk meg. A mátrixmódosító adalékok hatásmechanizmusa eltérő. A $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -adalék pl. kettős hatású:

- a mintában lévő nátrium-kloridot illékony ammónium-kloriddá alakítja át, amit eltudunk párologtatni a hőkezelési szakaszban, és így csökkentjük a NaCl zavaró hatását,
- a kadmiumot kevésbé illékony foszfátok formájában stabilizálja és csökkenti a veszteséget.

A palládium-nitrát adalék a grafiton fémpalládiummá redukálódik, amely ötvözetet képez az analittal, így növeli a termikus stabilitását.

Mátrixmódosító adalék		vizsgált elem
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	Mg	Be, V, Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Al
$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	Pd/Mg	Cu, Ag, Au, Cd, Hg, Ga, In, Tl, Ge, Sn, Pb, As, Sb, Bi, Se, Te
$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Pd/Ca	P
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Ca	B
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$		Pb

2.5.5.1. táblázat. Mátrixmódosító adalékok

A kadmium grafitkemencés AAS-meghatározásához kidolgozott program lépései a 2.5.5.2. táblázatban követhetők. A meghatározást palládium-nitrát mátrixmódosító adalék jelenlétében, platformot tartalmazó, pirolitikus bevonatú grafitcsőben végezzük, összesen 20 µl térfogatú oldat bemérésével. A program első lépése a szárítás, amit a platform miatt az oldat forrpointja fölötti hőmérsékleten kell végeznünk. A második lépés, a hőkezelés a palládium-nitrát adaléknak köszönhetően viszonylag nagy hőmérsékleten végezhető, így biztosítható az illékony mátrix hatékony eltávolítása. A harmadik lépésben a kemencét visszahűtjük és abszorbancia nulla állítást végzünk és előkészítjük az atomizálási szakaszt. A negyedik, atomizálási szakaszban hőmérsékletkontrollált, maximális sebességű fűtést alkalmazunk és a belső argon áramot leállítjuk. Ebben a szakaszban kiiratjuk a jelet és meghatározzuk a csúcsterületet és a csúcsmagasságot. Az ötödik (tisztítási) szakaszban eltávolítjuk a minta maradékait, ezt segítő a belső gázáramot újra bekapcsoljuk.

Lépés	1	2	3	4	5
Hőmérséklet, °C	150	750	20	2300	2500
Felfűtési idő, s	1	5	1	„0”	1
Tartási idő, s	15	10	10	3	2
Jelfeldolgozás				X	
Nullázás			X		
Argon, ml/min	200	200	200	0	200
Argon stop				X	

2.5.5.2. táblázat. A kadmium grafitkemencés meghatározásának programja

2.5.6. Hideggőzös higany-AAS- és hidrid-AAS-módszerek

A higany ($\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0\uparrow$) és a kovalens, gázhalmazállapotú hidrideket (\uparrow = gáz halmazállapot) képző elemek ($\text{Ge}^{4+}/\text{GeH}_4\uparrow$, $\text{Sn}^{4+}/\text{SnH}_4\uparrow$, $\text{Pb}^{4+}/\text{PbH}_4\uparrow$, $\text{As}^{3+}/\text{AsH}_3\uparrow$, $\text{Sb}^{3+}/\text{SbH}_3\uparrow$, $\text{Bi}^{3+}/\text{BiH}_3\uparrow$, $\text{Se}^{2+}/\text{SeH}_2\uparrow$, $\text{Te}^{4+}/\text{TeH}_2\uparrow$) kémiai reakcióval szobahőmérsékleten gázhalmazállapotba vihetők és az oldatporlasztásos módszernél lényegesen nagyobb hatásokkal juttathatók be az AAS-készülék atomizáló egységébe, illetve az induktív csatolású plazmába. Ezzel az eljárással a L-AAS-, ICP-OES- és ICP-MS-módszer kimutatási határait jelentősen, nagyságrendekkel javíthatjuk. Legelterjedtebbek az atomabszorpciós és az ICP-készülékekhez gyártott ún. „higany-hidrid” kiegészítő készülékek, de léteznek önálló, az AAS- vagy AF-elvű detektáló egységet is tartalmazó Hg, illetve Hg, As és Se meghatározásra tervezett műszerek is. A gázkifejlesztéses mintabevitelt a grafitkemence-AAS-módszerrel kombinálva is alkalmazzák.

Hideggőzös higany-AAS-módszer

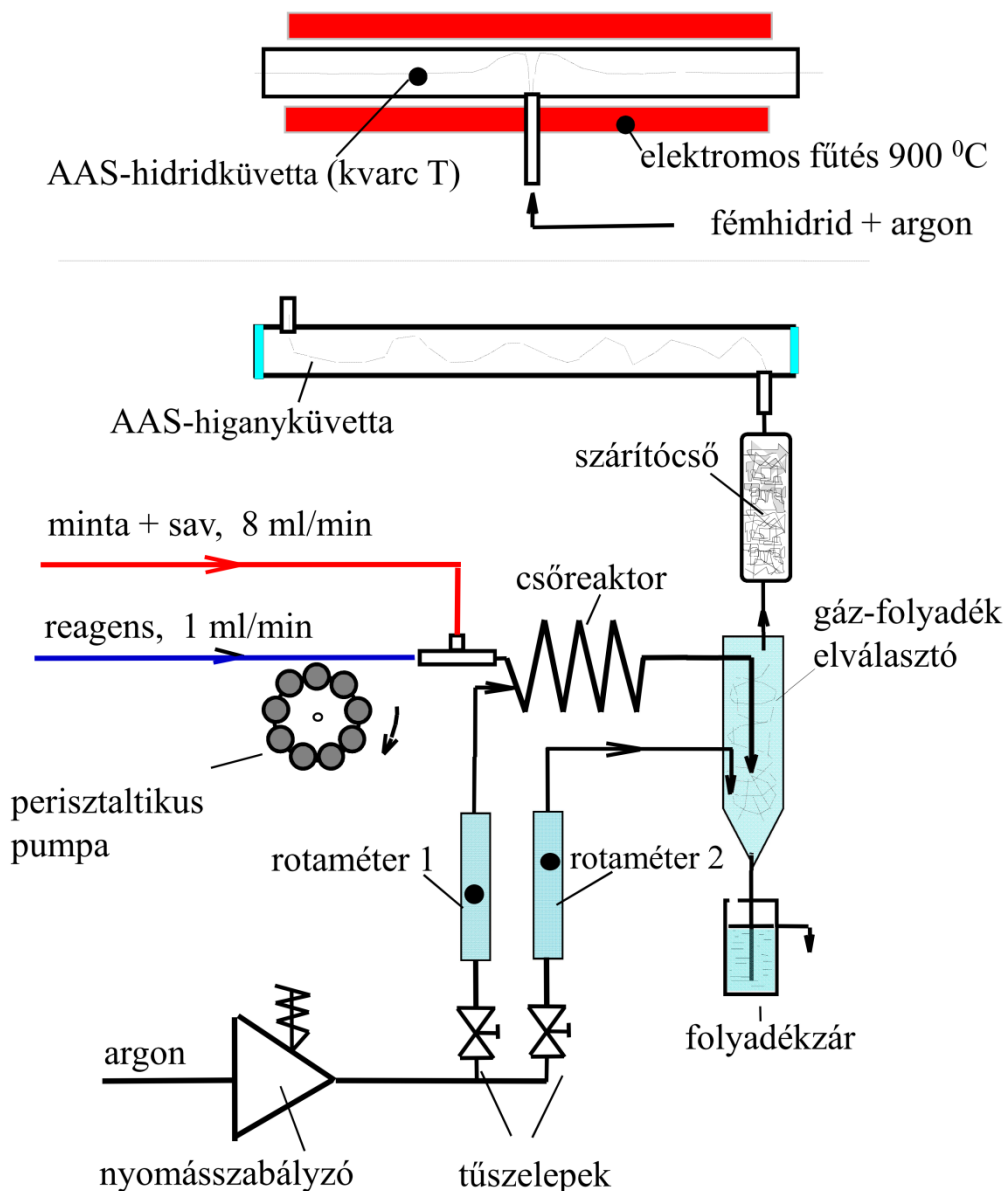
A higany atomabszorpciós, illetve atomfluoreszcenciás elvű hideggőzös meghatározásánál kihasználjuk, hogy az oldatban redukált higany (Hg^0) szabadatomos állapotú és így külön atomizálás nélkül, szobahőmérsékleten is mérhető atomspektrometriás elven. A higany(II)ion redukcióját kénsavas közegben ón(II) kloriddal (reagens: SnCl_2 , 20% m/v), illetve sósavas közegben nátrium-[tetrahidro-borát(III)]-tal (reagens: NaBH_4 , 1–2% m/v + 0,5 M NaOH) végezhetjük. A redukcióval előállított higanygőz rosszul oldódik a vizes fázisban, ezért nagy része spontán átmege a gázfázisba. A higanygőzt levegővel vagy argonnal visszük át a detektoregységbe. Az atomabszorpciós készülékben 10–15 cm hosszú, kvarcablakkal felszerelt, gázküvetát használunk. A higany meghatározás kimutatási határa tovább javítható, ha a mintából előállított higanygőzt nem közvetlenül mérjük, hanem először nagy felületű aranyat tartalmazó elnyelő csőben (átmérő: 4 mm, hossz: 15 mm) amalgám formájában megkötjük, majd termikus úton szabadítjuk fel az akkumulált higanyt, és mérjük AAS- vagy AF-elven (amalgámos dúsítás). Ez a módszer alkalmazható gázok, illetve levegő higanytartalmának meghatározására, úgy hogy aranyat tartalmazó mintavevő csövekben kötjük meg a higanyt, majd a laboratóriumban termikus elven felszabadítva a higanygőzt történik az elemzés.

Hidrides módszerek

A hidrides módszereket a környezetvédelmi analitikában elsősorban az arzén, szelén és antimon meghatározására használjuk, AAS- vagy ICP-készülékkel kapcsolva. A hidrideket az AAS-készülékben atomizálni kell, ez 900–1000 °C-os, láng vagy elektromos fűtésű, kvarc küvettában történhet. A hidridek előállítása összetett folyamat. Fontos az elem oxidációs állapotának megfelelő beállítása, a savkoncentráció és a reagenskoncentráció optimalása.

Higany-hidrid készülékek

Az oldatos gázkifejlesztéses módszer (i) szakaszos vagy (ii) folyamatos elvű készülékkel valósítható meg. Általában ugyanaz az alapkészülék alkalmas a hideggőzös higany-AAS- és a hidrid-AAS-mérés megvalósítására.



2.5.6.1. ábra. Folyamatos elvű higany-hidrid készülék

A folyamatos elvű készülékek felépítése nagyon egyszerű (2.5.6.1. ábra). A készülék lelke a kétcsatornás perisztaltikus pumpa, amely áramoltatja a megfelelő savat is tartalmazó, előkezelt mintát

(6–8 ml/min) és a reagenst (1–2 ml/min). A két folyadékáramot egyesítjük, csőreaktorban reagáltatjuk, majd a gáz-folyadék elválasztóban a higanygőzt, illetve a hidrideket elválasztva a reakcióelegyből argon vivőgázzal szárítócsövön keresztül a megfelelő küvettába visszük. A higany mérésnél kvarcablakkal lezárt 10–15 cm hosszú szobahőmérsékletű gázküvettát használunk, míg a hidrid-AAS-mérésnél 800–900 °C-ra fűtött, nyitott kvarcküvettát alkalmazunk.

A reakcióelegy folyadék része folyadékzáron át távozik a készülékből. A gáz-folyadék elválasztás az egyik kritikus pontja a folyamatos elvű készülékeknek, mert a gázfázisba történő átlépés sebessége nem eléggé gyors, ami hosszú kiürülési időt, instabil alapvonalat eredményezhet. A folyamatos elvű „higany-hidrid” készülékeket használjuk ICP-OES- és ICP-MS-készülékhez csatolva is. A folyamatos elvű készülék stacioner jelet szolgáltat.

2.6. INDUKTÍV CSATOLÁSÚ PLAZMA TÖMEGSPEKTROMETRIÁS (ICP-MS) MÓDSZER

Az 1980-as években kidolgozott ICP-MS-módszer az ICP-OES-módszerben használt inductív csatolású argon-argon plazmát mint atmoszférikus nyomáson üzemelő ionforrást használja. A 6000–8000 °C hőmérsékletű plazma hatékony ionforrás, a legtöbb fém ionizációfoka nagyobb, mint 0,9, azaz 90%, bár van néhány fontos elem, ami csak kisebb mértékben ionizálódik: As: 0,52; Se: 0,33; S: 0,14; F: 0,009. A plazmában keletkező ionok energiája 2–10 eV, ami kedvező a tömegspektrometriás detektálás szempontjából. Az ICP-MS-módszer kimutatási határai pg/ml (ppt) koncentráció nagyságrendbe esnek. Az ICP-MS-módszer kimutatási határai kedvezőbbek, mint a GK-AAS-módszer kimutatási határai és kb. három-öt nagyságrenddel jobbak, mint az ICP-OES-, illetve a láng-AAS-módszer kimutatási határai. A módszer dinamikus koncentrációtartománya is nagyon kedvező, 8–10 nagyságrendet is elérhet.

Az ICP-MS-módszer fontosabb előnyei

- 70–75 féle elem minőségi és mennyiségi meghatározását teszi lehetővé;
- gyors pásztázó, vagy szimultán multielemes elemzést tesz lehetővé 2–3 perc/minta mérési idővel;
- a dinamikus koncentrációtartomány nagy, 8–10 nagyságrend;
- mellékalkotók és nyomelemek egyidejű meghatározását teszi lehetővé;
- a módszer kimutatási határai nagyon kedvezőek (pg/ml);
- a tömegspektrumok lényegesen egyszerűbbek, mint az optikai emissziós spektrumok;
- az egyszerűbb spektrumok miatt kevesebb a spektrális zavarás;
- a háttér általában elhanyagolható, nem szükséges háttérkorrekció;
- az izotóppösszetétel meghatározható.

Az ICP-MS-módszer hátrányai

- az oldat összes sótartalma maximum 0,1%;
- az elem izobárok (eltérő rendszámú elemek azonos tömegszámú izotópjai pl. $^{58}_{26}\text{Fe}$, $^{58}_{28}\text{Ni}$) spektrális zavarást okoznak, ami nagy felbontású készülékkel is csak részlegesen kerülhető el;
- a plazmából, illetve a mátrixból származó molekulaionok spektrális zavarásokat okoznak;
- a mátrixzavarások nem elhanyagolhatók;
- az üzemeltetési és karbantartási költségek nagyok;
- a módszerkidolgozás és üzemeltetés speciális képzettséget és gyakorlatot igényel.

2.6.1. ICP-MS-tömegspektrumok jellemzése

Ha elvégezzük a számunkra érdekes teljes tömegszám-tartományban a detektorjel (ion/s, cps = counts per second) mérését és a tömegszám/töltés (m/z) függvényében ábrázoljuk a jelet, kapjuk a tömeg-

spektrumot. Az ICP-MS-tömegspektrumban megjelennek az elemek izotópcsúcsai és a plazmában keletkező molekulaionok (poliatomos ionok) csúcsai is. A molekulaionok a rendszerben jelen lévő fő elemek izotópjából (Ar, H, O, Cl, N, S, C, fémek) származtathatók.

Az egyes izotóp tömegek (amu) nagyon pontosan, 8–9 tizedes jeggyel jellemezhetők. Az analitikus számára rendelkezésre álló adatok bemutatására tájékoztatásul megadjuk néhány elem izotópjainak tömegét és a természetes izotópok relatív gyakoriságát a 2.6.1.1. táblázatban és a 2.6.1.2. táblázatban. Ezek az adatok a készülék szoftverében is rendelkezésre állnak.

Elem	Izotóp	Atomtömeg amu	Izotóparány %	Elem	Izotóp	Atomtömeg amu	Izotóparány %
H	1	1,007825037	99,985	S	34	33,967867740	4,215
H	2	2,014101787	0,015	S	36	35,967079000	0,107
He	3	3,016029297	0,00013	Cl	35	34,968852729	75,4
He	4	4,002603250	100	Cl	37	36,965902624	24,6
Li	6	6,015123200	7,52	Ar	36	35,967545605	0,337
Li	7	7,016004500	92,48	Ar	38	37,962732200	0,063
Be	9	9,012182500	100	Ar	40	39,962383100	99,6
B	10	10,012938000	18,98	K	39	38,963707900	93,08
B	11	11,009305300	81,02	K	40	39,963998800	0,012
C	12	12,000000000	98,892	K	41	40,961825400	6,91
C	13	13,003354839	1,108	Ca	40	39,962590700	96,92
N	14	14,003074008	99,635	Ca	42	41,958621800	0,64
N	15	15,000108978	0,365	Ca	43	42,958770400	0,13
O	16	15,994914640	99,759	Ca	44	43,955484800	2,13
O	17	16,999130600	0,037	Ca	46	45,953689000	0,0032
O	18	17,999159390	0,204	Ca	48	47,952532000	0,179
F	19	18,998403250	100	Sc	45	44,955913600	100
Ne	20	19,992439100	90,92	Ti	46	45,952632700	7,95
Ne	21	20,993845300	0,257	Ti	47	46,951764900	7,75
Ne	22	21,991383700	8,82	Ti	48	47,947946700	73,45
Na	23	22,989769700	100	Ti	49	48,947870500	5,51
Mg	24	23,985045000	78,6	Ti	50	49,944785800	5,34
Mg	25	24,985839200	10,11	V	50	49,947161300	0,24
Mg	26	25,982595400	11,29	V	51	50,943962500	99,76
Al	27	26,981541300	100	Cr	50	49,946046300	4,31
Si	28	27,976928400	92,18	Cr	52	51,940509700	83,76
Si	29	28,976496400	4,71	Cr	53	52,940651000	9,55
Si	30	29,973771700	3,12	Cr	54	53,938882200	2,38
P	31	30,973763400	100	Mn	55	54,938046300	100
S	32	31,972071800	95,018	Fe	54	53,939612100	5,9
S	33	32,971459100	0,75	Fe	56	55,934939300	91,52

2.6.1.1. táblázat. Elemek izotópjai, atomtömegük és a természetes izotópok arányai I.

Elem	Izotóp	Atomtömeg amu	Izotóparány %	Elem	Izotóp	Atomtömeg amu	Izotóparány %
Fe	57	56,935395700	2,25	Br	81	80,916290000	49,43
Fe	58	57,933277800	0,33	Kr	78	77,920397000	0,354
Co	59	58,933197800	100	Kr	80	79,916375000	2,27
Ni	58	57,935347100	67,76	Kr	82	81,913483000	11,56
Ni	60	59,930789000	26,16	Kr	83	82,914134000	11,55
Ni	61	60,931058600	1,25	Kr	84	83,911506400	56,9
Ni	62	61,928346400	3,66	Kr	86	85,910614000	17,37
Ni	64	63,927968000	1,16	Rb	85	84,911799600	72,15
Cu	63	62,929599200	69,09	Rb	87	86,909183600	27,85
Cu	65	64,927792400	30,91	Sr	84	83,913428000	0,56
Zn	64	63,929145400	48,89	Sr	86	85,909273200	9,86
Zn	66	65,926035200	27,81	Sr	87	86,908890200	7,02
Zn	67	66,927128900	4,11	Sr	88	87,905624900	82,56
Zn	68	67,924845800	18,56	Y	89	88,905856000	100
Zn	70	69,925324900	0,62	Zr	90	89,904708000	51,46
Ga	69	68,925580900	60,2	Zr	91	90,905644200	11,23
Ga	71	70,924700600	39,8	Zr	92	91,905039200	17,11
Ge	70	69,924249800	20,52	Zr	94	93,906319100	17,4
Ge	72	71,922080000	27,43	Zr	96	95,908272000	2,8
Ge	73	72,923463900	7,76	Nb	93	92,906378000	100
Ge	74	73,921178800	36,54	Mo	92	91,906809000	15,05
Ge	76	75,921402700	7,76	Mo	94	93,905086200	9,35
As	75	74,921595500	100	Mo	95	94,905837900	14,78
Se	74	73,922477100	0,96	Mo	96	95,904675500	16,56
Se	76	75,919206600	9,12	Mo	97	96,906017900	9,6
Se	77	76,919907700	7,5	Mo	98	97,905405000	24
Se	78	77,917304000	23,61	Mo	100	99,907473000	9,68
Se	80	79,916520500	49,96	Ru	96	95,907596000	5,68
Se	82	81,916709000	8,84	Ru	98	97,905287000	2,22
Br	79	78,918336100	50,57	Ru	99	98,905937100	12,81

2.6.1.2. táblázat. Elemek izotópjai, atomtömegük és a természetes izotópok arányai II.

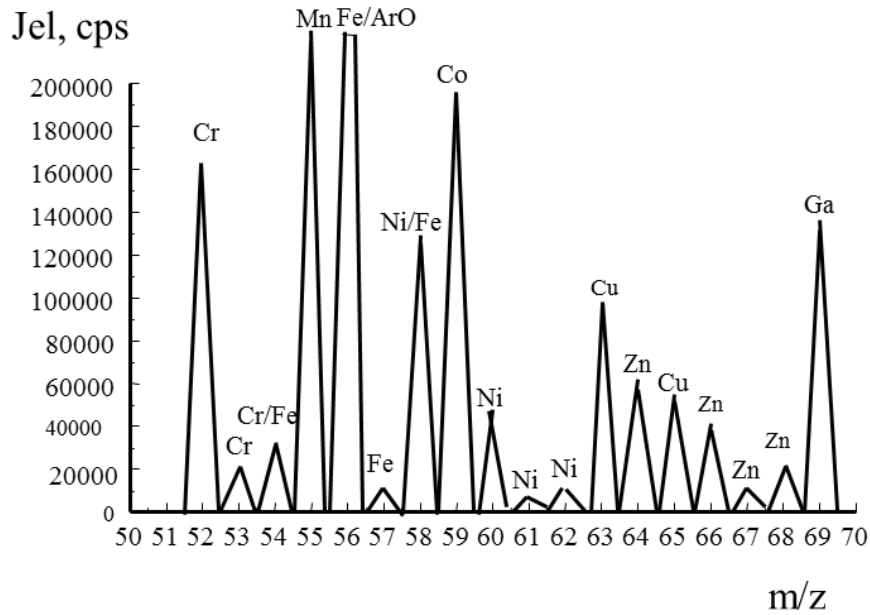
Az izobárok potenciális spektrális zavarásának megítélésére szolgálnak példaként a 2.6.1.3. táblázatban szereplő adatok. Az adott tömegszámnál jelentkező izobárok itt egy-egy oszlopban láthatók. Az elemeknél megadott számértékek a természetes izotóparányok százalékban.

Izotóp/izotóparány, %										
amu	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
K	6,7									
Ca		0,7	0,1	2,1		0,0		0,2		
Sc					100,0					
Ti						8,0	7,5	73,7	5,5	5,3
V										0,3
Cr										4,4
amu	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
V	99,7									
Cr		83,8	9,5	2,4						
Mn					100,0					
Fe				5,8		91,7	2,1	0,3		
Co									100,0	
Ni								67,8		26,4
amu	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
Ni	1,2	3,7		1,0						
Cu			69,1		30,9					
Zn				48,9		27,8	4,1	18,6		0,6
Ga									60,0	
Ge										20,7
amu	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
Ga	40,0									
Ge		27,5	7,7	36,4		7,7				
As					100,0					
Se				0,9		9,0	7,5	23,5		50,0
Br									50,7	
Kr								0,4		2,3

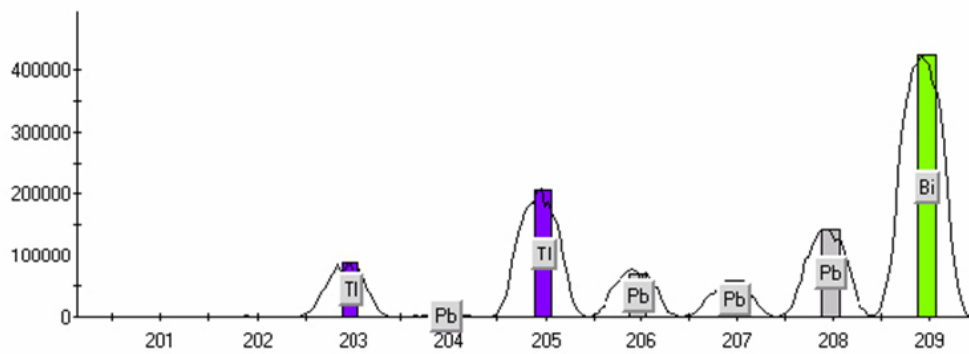
2.6.1.3. táblázat. A természetes izotópok relatív arányai, izobárok

A kis felbontású ($R = 300$) kvadrupol ICP-MS-készülékkel kapott spektrumban az izotóptömegeket csak egész számra kerekítve láthatjuk a spektrumban. Például a $^{58}\text{Fe}^+$ (57,9332778 amu) és a $^{58}\text{Ni}^+$ (57,9353471 amu) izotóp az $m/z = 58$ helyen jelenik meg. Az ilyen kis tömegkülönbségű ionok, izobárok csak nagyon nagy felbontású tömegspektrumban különböztethetők meg. Hasonlóan átlapolások keletkezhetnek a plazma és a minta főalkotóiból keletkező molekulaionok és az elemionok között is.

Egy kis felbontású kvadrupol tömegspektrométerrel az $m/z = 50-70$ tartományban felvett spektrumrészletet a 2.6.1.1. ábra és a 2.6.1.2. ábra mutatja be. Ilyen felbontásnál viszonylag sok egybeesést tapasztalunk az elemek izotópjai (izobárok), valamint elemion és molekulaion viszonylatban is. A spektrumban egybeeső ionok analitikai szempontból spektrális zavarásként jelentkeznek. Az ábrán bemutatott spektrumban a $^{54}\text{Cr}^+$ és $^{54}\text{Fe}^+$ a $^{58}\text{Ni}^+$ és $^{58}\text{Fe}^+$ izotópok lapolnak át, valamint a $^{56}\text{Fe}^+$ és az $^{56}\text{ArO}^+$ molekulaion jelentkezik azonos helyen. Ezek a tömegszámhelyek nem használhatók, ha zavaró komponens is jelen van.

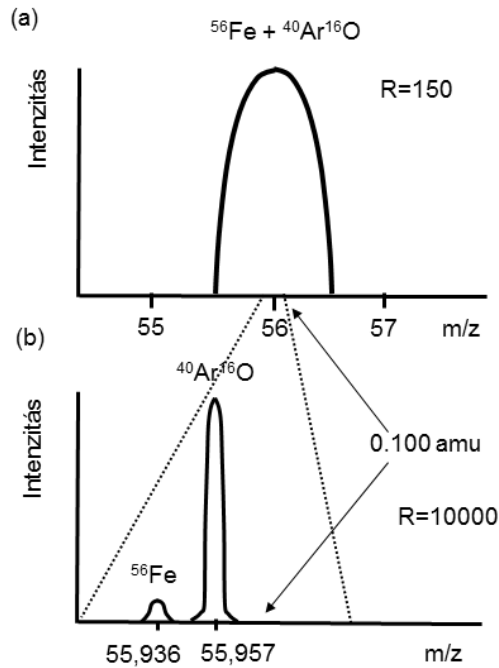


2.6.1.1. ábra. Kis felbontású kvadrupol készülékkel felvett ICP-MS-tömegspektrum részlete



2.6.1.2. ábra. Kis felbontású kvadrupol készülékkel felvett ICP-MS-tömegspektrum részlete a készülék monitorán

Nagy felbontású ún. HR-ICP-MS-készülékkel $R = 10000$ felbontóképesség érhető el, ezért sokkal kevesebb a spektrális zavarás, de teljesen nem küszöbölhető ki. A 2.6.1.3. ábra mutatja, hogy a Fe^{56+} és az ArO^{56+} ionok kis felbontásnál egybeesnek, de nagy felbontásnál tökéletesen elválnak.

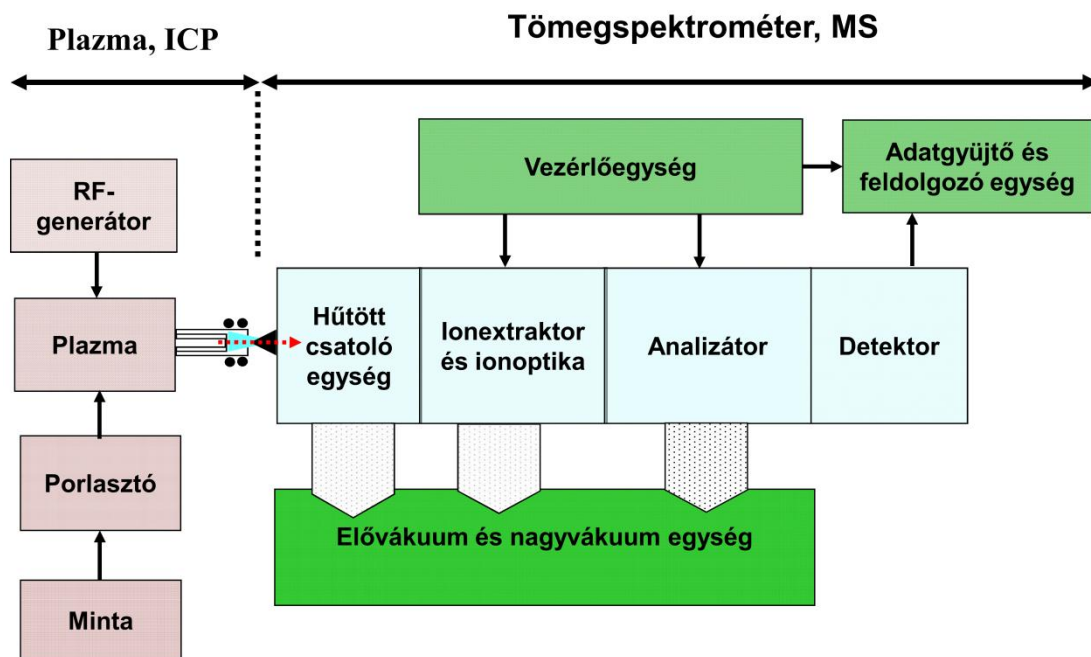


2.6.1.3. ábra. A Fe^{56+} - és az ArO^{56+} -ionok ICP-MS-spektruma kis ($R = 150$) és nagy felbontással ($R = 10000$)

2.6.2. Az ICP-MS-készülékek felépítése

Az ICP-MS készülékek felépítését, funkcionális egységeit a 2.6.2.1. ábra mutatja be. A két fő rész:

- a mintából pozitív ionokat előállító plazmaegység és
- a plazmában (ICP) előállított ionokat tömeg/töltés szerint (m/z) szelektáló és a detektáló tömegspektrométer egység (analizátor és detektor).



2.6.2.1. ábra. ICP-MS-készülék fő egységei

Plazma, ICP-egység

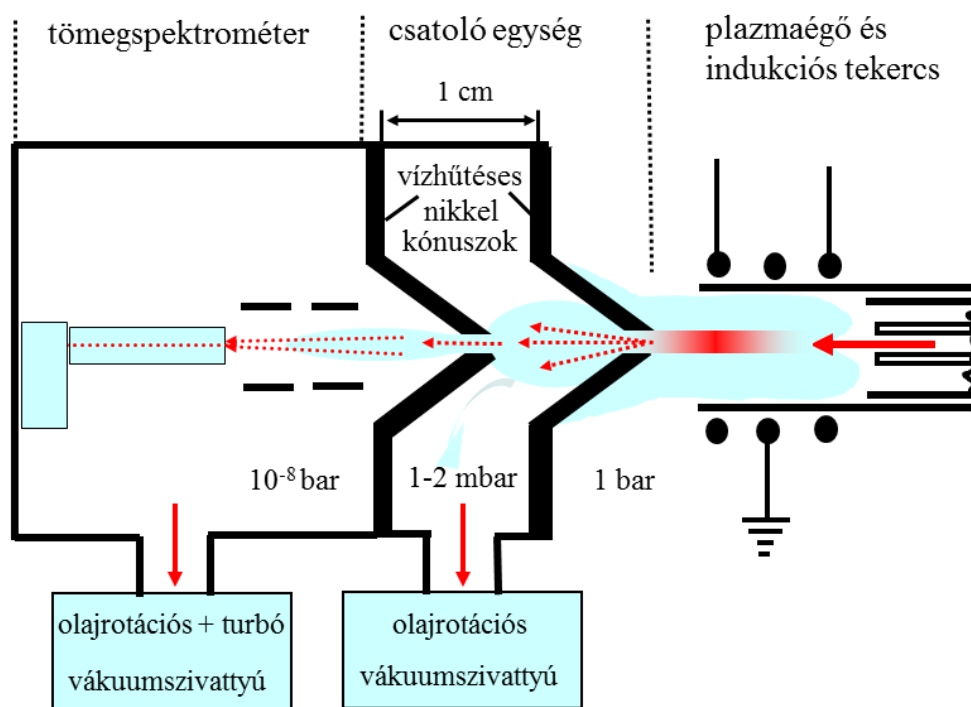
Az ICP-egység alapelveiben és felépítésében azonos az ICP-OES-készülékekben használt plazmaegységgel. Az ICP-MS-készülékekben a plazmaégőt általában vízszintesen (horizontálisan) helyezik el, mert így illeszkedik a tömegspektrométer ugyancsak vízszintes tengelyéhez. Az argon-argon plazmát kvarcból készült plazmaégőben hozzuk létre, és tartjuk fenn rádiófrekvenciás térrel, amit 1–2 kW teljesítményű RF-generátor szolgáltat egy indukciós tekercsen keresztül. A mintát az esetek többségében oldat formában porlasztóval aeroszollá alakítva, argongázzal visszük be a plazma középső zónájába. A nagy hőmérsékletű plazmában, a mintában található elemekből szabadatomok és jelentős arányban egyszeres pozitív töltésű ionok (M^+) keletkeznek. A plazma fő tömegét az Ar és Ar^+ és a minta oldószeréből (H_2O) és az oldott levegőből származó H^+ , O^+ és N^+ alkotja. A minta alkotóiból származó M^+ ionok koncentrációja 4–5 nagyságrenddel kisebb.

Tömegspektrométer egység

A tömegspektrometriás egység részei: (i) a mintavevő, csatoló egység, (ii) ionoptika, (iii) analízátor, (iv) iondetektáló, számláló egység, (v) vákuumrendszer.

A mintavevő, csatoló egység

A tömegspektrometriás egység első eleme a hűtött csatoló egység (interface), melynek az a feladata, hogy a plazmában atmoszférikus nyomáson, nagy hőmérsékleten (6000–8000 °C) keletkezett ionokat bejuttassa a tömegspektrométer nagyvákuum alatt működő terébe.



2.6.2.2. ábra. Az ICP-MS-készülék csatoló egységének felépítése és működése



2.6.2.3. ábra. Nikkeltónusok. A plazmaégő a mintavevő kónusz előtt

A csatoló egységben (2.6.2.2. ábra és 2.6.2.3. ábra) két egymás mögött elhelyezett nikkeltónusz kapillárisfuratán keresztül szívjuk be a plazmagázokat és benne a M^+ -ionokat a tömegspektrométer nagyvákuum terébe. A kónusok közötti teret nagy teljesítményű vákuumszivattyúval evakuálva az első és a második kónusz között 1–2 mbar, a második kónusz után 10^{-8} bar nyomást hozunk létre. Az első ún. mintavevő kónusz belemerül az ionokat előállító és tartalmazó plazmába. A mintavevő kónuszt erélyes vízhűtéssel védjük a plazma nagy hőterhelésétől. A nyomáskülönbség hatására a plazmagáz és benne a fémionok kb. 30–50 m/s sebességgel áramlanak át a kónusz 0,7–1 mm átmérőjű furatán és expandáló gázfelhőt alakítanak ki az első kónusz mögötti térben. Ez a folyamat megismétlődik a második kónuszon is (skimmer). A második kónusz mögötti zónában, a nagyvákuum térben kialakul a mintát reprezentáló ionnyaláb. Bár az ionok bevitelének hatásfoka elég rossz, ezt ellensúlyozza a tömegspektrometriás detektálás különlegesen nagy érzékenysége.

Ionoptika

A következő egység az ionoptika, amely elválasztja az M^+ -ionokat a nem töltött részecskéktől (Ar), felgyorsítja és fókuszálja az ionnyalábot, előkészíti az ionok tömegspektrometriás elválasztását. A fókuszáló egység felépítése és működése a különböző készüléktípusoknál jelentősen eltérő, de lényegében szabályozott feszültségű fém- vagy grafitgyűrűk, -hengerek, -lapok végzik ezt a fontos feladatot. Az ionnyaláb vezetését úgy oldják meg, hogy a plazma intenzív optikai sugárzását is eliminálják.

Tömeg szerinti elválasztást végző analizátor

A tömegspektrométer harmadik egysége végzi az ionok tömeg/töltés (m/z) szerinti elválasztását. A kereskedelmi forgalomban lévő ICP-MS-készülékekben három tömegspektrométer konstrukcióval találkozhatunk:

1. kvadrupol tömegszűrővel működő, kis felbontású ICP-tömegspektrométer (LR-ICP-MS),
2. közepes felbontású, repülési idő ICP-tömegspektrométer (MR-ICP-MS),,
3. nagy felbontású, kettős fókuszálású ICP-tömegspektrométer (HR-ICP-MS).

Az olcsóbb kvadrupol tömegspektrométert alkalmazzák a legszélesebb körben és ezt követi a kettős fókuszálású tömegspektrométer. A repülési idő tömegspektrométereket jelenleg csak speciális feladatkörben alkalmazzák ICP-MS-készülékben.

A pásztázó elvű analizátort tartalmazó tömegspektrométerek a sokféle iont tartalmazó, fókuszált ionnyalábból az adott beállításnál, egy adott m/z tartományba eső iont bocsátanak át, így válik lehetővé a különböző tömegű ionok azonosítása és mennyiségi meghatározása. A tömegspektrométer beállításának változtatásával az ionok (m/z szerint) egymás után meghatározhatók (pásztázás).

A HR-ICP-MS-készüléknek létezik multidetektoros (4000 detektor) szimultán detektálású változata is.

Iondetektáló, számláló egység

Az analizátorból kilépő ionok detektálása, számlálása céljából a korszerű ICP-MS-készülékekben elektronsokszorozót használunk. Az elektronsokszorozó első dinódája ion-elektron átalakítást végez. A becsapódó, nagy energiájú ion elektronkilépést idéz elő a fémfelületből, majd a keletkező elektront a következő dinódák elektrosztatikus gyorsítást követően sokszorozzák. A kisebb koncentrációk tartományában megszámlálhatók (counting üzemmód), míg a nagyobb koncentrációknál az áramerősséget mérhetjük (analóg üzemmód).

A két üzemmód kombinálásával, automatikus váltásával 8–10 nagyságrend átfogás érhető el az iondetektálásban. Az ion-elektron konverterbe becsapódó ionok viszonylag nagy energiája miatt a elektronsokszorozók termikus zaja kicsi (kb. 1 cps), lényegében ez eredményezi a kiváló kimutatási határokat.

Vákuumrendszer

A tömegspektrométerek belső terében nagyvákuumot, 10^{-7} – 10^{-8} bar nyomást kell fenntartani, hogy a részecskék szabad, ütközésmentes mozgása biztosítva legyen. Ugyancsak a vákuum keltette gázárammal történik a plazmában képzett ionok bejuttatása a tömegspektrométerbe. A vákuumrendszer kétfokozatú. Az első fokozat egy nagy teljesítményű olajrotációs szivattyú, ami kb. 10^{-4} bar elővákuumot állít elő. A nagyvákuumot egy vagy két darab turbomolekuláris vákuumszivattyú biztosítja. A nagyvákuumrendszer elemei nagyon kényes és drága egységeket tartalmaznak, ami jelentős karbantartási költséget okoz.

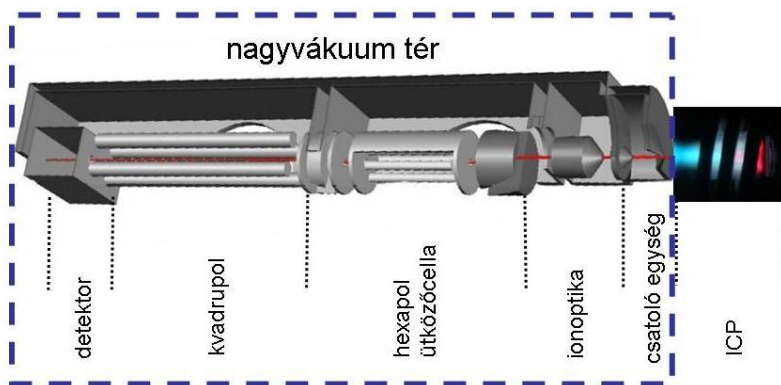
Vezérlőegység, adatgyűjtő és adatfeldolgozó egység

A számítógépes vezérlőegységen keresztül történik az egyes részegységek működési paramétereinek beállítása, az ionoptika, a tömegpásztázás és a detektorműködés vezérlése. A számítógépes egység gyűjti és dolgozza fel a detektorjelet és a felhasználói programmal segíti az analitikai alkalmazásokat.

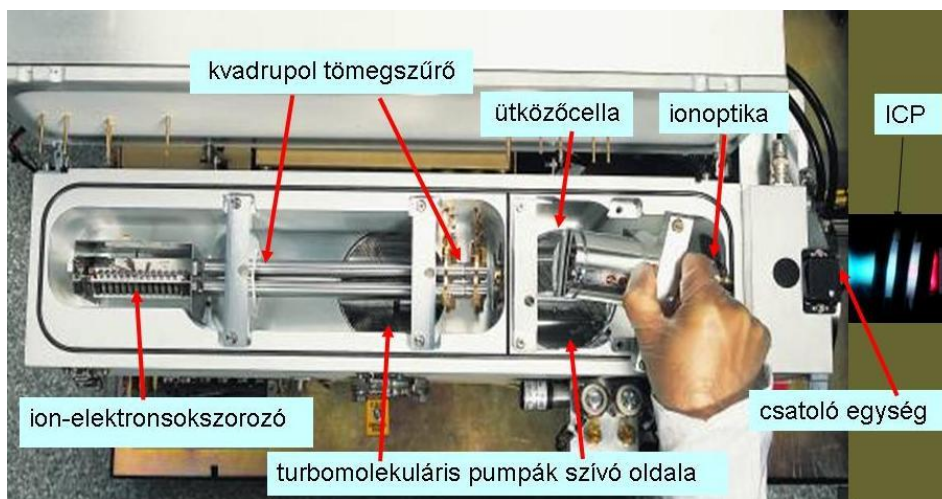
2.6.3. *Kvadrupol ICP-MS-készülékek*

A kvadrupol tömegszűrővel működő, kis felbontású készülékek kerültek először kereskedelmi forgalomba. Kedvezőbb, elérhetőbb árak miatt ma is a legtöbb laboratórium ezeket a készülékeket használja.

A kis felbontású kvadrupol tömegszűrőt tartalmazó ICP-MS-készülék felépítését a [2.6.3.1. ábra](#) mutatja, míg egy korszerű kvadrupol ICP-MS-készülék felnyitott MS-egységének fényképét az [2.6.3.2. ábra](#) szemlélteti. A készülék felépítése viszonylag egyszerű, az egyes egységek jól felismerhetőek, az egységek modulárisan cserélhetőek.



2.6.3.1. ábra. Kvadrupól ICP-MS-készülék felépítése



2.6.3.2. ábra. Kvadrupól ICP-MS-készülék felülnézeti képe. A fénykép az ütközőcella behelyezését is szemlélteti

A csatoló egységet követően a tömegspektrométerbe bevitt ionokat az ionoptika segítségével fókuszáljuk, majd a fókuszált ionnyalábot egy, az optikai sugárzás kizárását szolgáló egységen át vezetjük a kvadrupól analizátorba. Az m/z szerinti elválasztást kvadrupól tömegszűrő pásztázásával valósítjuk meg. A tömegszűrőn átjutó iont a detektorra vezetjük és az ionokat addig ideig számolva (cps) meghatározzuk az adott ion koncentrációját jellemző adatot. A tömegszűrő beállításával a teljes tömegtartományt (1–300 amu) vizsgálhatjuk. Az ionáram, illetve ionszám arányos az adott elem oldatbeli koncentrációjával.

Az ICP-ionforráson keresztül a tömegspektrométerbe bevitt minta ionjai az m/z hányados szerint időben elválasztva kerülnek detektálásra. A tömegpásztázás gyors, így az ICP-MS-módszerrel nagyszámú elem meghatározható, mintánként 60–120 s mérési idővel. Az ICP-MS-módszer mintaszámban és elemszámban kifejezett teljesítménye összevethető a szimultán multielemes optikai spektroszkópiai módszerekével.

A kvadrupól ICP-MS-készülékeket jellemző legfontosabb paramétereket az [2.6.3.1. táblázatban](#) foglaltuk össze.

m/z tartomány	1–300 amu
Pásztázási sebesség (elvi)	3000 amu/s (0–300 amu, 0,1 s)
Felbontóképesség, $R = m/\Delta m$	300
Felbontás ($\Delta m I = 10\%$ -nál) kis felbontás = 3,0 amu normál felbontás = 1,0 amu nagy felbontás = 0,3 amu	a felbontás javításával jelentősen csökken az intenzitás
Molekulaion-zavarás	jelentős, kezelésére nem elegendő a felbontás
Módszerek molekulaion-zavarások kiküszöbölésére	(i) hidegplazma módszer (ii) ütközőcella vagy reakciócella módszer

2.6.3.1. táblázat. Kvadrupol ICP-MS-készülékek jellemző paraméterei

2.6.4. Molekulaionok keletkezése és szerepe ICP-MS-mérésnél

A elemek ICP-MS-meghatározását zavaró molekulaionok egyrészt a plazmában, másrészt a mintavevő egységben alakulnak ki. A molekulaionok alkotó atomjai elsősorban a nagy koncentrációban előforduló elemek. Alapesetben a plazmagáz, az argon, a minta oldószere a víz (oxigén, hidrogén) és a beoldódó levegőből nitrogén fordul elő. Ezek az elemek a 2.6.4.1. táblázatban megadott molekulaionokat alkotják, és elsősorban a Si, P, S, K, Ca, Fe, Cr, Se izotópjait zavarják.

Tömeg	Molekulaion	Zavart elemek
28	N_2^+	Si
29	N_2H^+	Si
30	NO^+	Si
31	NOH^+	P
32	O_2^+	S
33	O_2H^+	S
39	$^{38}ArH^+$	K
40	$^{40}Ar^+$	Ca
41	$^{40}ArH^+$	Ca
44	CO_2^+	Ca
54	$^{40}ArN^+$	Fe, Cr
55	$^{40}ArNH^+$	Mn
56	$^{40}Ar^{16}O^+$	Fe
76	$^{40}Ar^{36}Ar^+$	Se
78	$^{40}Ar^{38}Ar^+$	Se
80	$^{40}Ar_2^+$	Se

2.6.4.1. táblázat. Az argon plazmában keletkező molekulaionok, a porlasztott víz és a vízben oldott levegő jelenlétében keletkező molekulaionok (tömeg, molekulaion, zavart elem)

Ha számításba vesszük a mintaelőkészítésnél használt savakat és a minták gyakori főalkotó elemeit, a 2.6.4.2. táblázatban megadott további molekulaionok keletkezésével kell számolni.

Mátrix komponens	Tömeg	Molekulaion	Zavart elem
Klór (Cl) pl.: HCl, HClO ₄ , Cl ⁻ , ClO ₄ ⁻	51	³⁵ ClO ⁺	V
	52	³⁵ ClOH ⁺	Cr
	53	³⁷ ClO ⁺	Cr
	54	³⁷ ClOH ⁺	Cr, Fe
	75	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl ⁺	As
Foszfor (P) pl.: H ₂ SO ₄ , PO ₄ ³⁻	47	PO ⁺	Ti
	48	POH ⁺	Ti
	63	PO ₂ ⁺	Cu
	71	⁴⁰ ArP ⁺	Ge
Kén (S) pl.: H ₂ PO ₄ , SO ₄ ²⁻	48	³² SO ⁺	Ti
	49	³² SOH ⁺	Ti
	50	³⁴ SO ⁺	Ti, V
	51	³⁴ SOH ⁺	V
	64	³² S ₂ ⁺ , ³² SO ₂ ⁺	Zn
	70	³⁸ Ar ³² S ⁺	Ge
	72	⁴⁰ Ar ³² S ⁺ , ³⁸ Ar ³² S ⁺	Ge
	74	⁴⁰ Ar ³⁴ S ⁺	Ge
Szén (C) pl.: szerves anyagok, CO ₂ , CO ₃ ²⁻	24	C ₂ ⁺	Mg
	25	C ₂ H ⁺ , ¹² C ¹³ C ⁺	Mg
	26	CN ⁺	Mg
	28	CO ⁺	Si
	44	CO ₂ ⁺	Ca
	45	CO ₂ H ⁺	Sc
	52	⁴⁰ ArC ⁺	Cr
Nitrogén (N) pl.: HNO ₃ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺ , N ₂	28	N ₂ ⁺	Si
	29	N ₂ H ⁺	Si
	30	NO ⁺	Si
	31	NOH ⁺	P
	54	⁴⁰ ArN ⁺	Fe, Cr
	55	⁴⁰ ArNH ⁺	Mn
	52	³⁸ ArN ⁺	Cr
53	³⁸ ArNH ⁺	Cr	

2.6.4.2. táblázat. A mátrixkomponensekből keletkező molekulaionok

2.6.5. Molekulaion-zavarások kiküszöbölése kis felbontású ICP-MS-készülékekben

A legelterjedtebb kvadrupol ICP-MS-mérést zavaró, adott esetben meghiúsító molekulaion-zavarások több fontos elemet (Cr, Fe, Se, As, Cu, V, Mn) zavarhatnak, ezért fontosak azok a technikai megoldások, amelyekkel ez a zavaró hatás kiküszöbölhető.

Hidegplazma módszer

A plazmaégőre helyezett fémárnyékoló gyűrű alkalmazásával csökkenti a plazmában a molekulaion képződését. Csak a könnyű elemeknél ad kielégítő eredményt. A nehezebb elemeknél jelentősen lerontja az érzékenységet. Hátránya továbbá, hogy szoftveresen nem ki-be kapcsolható.

Ütközőcella, reakciócella módszer

A MS-készülék fókuszáló egysége után elhelyezett egységben He, H₂, NH₃, CH₄ gáz segítségével vagy ezek keverékével (He + H₂, He + NH₃) bombázzuk szét vagy alakítjuk át a molekulaionokat, ezért a cellából kimenő termékeket már a kvadrupolegység szét tudja választani. A módszer előnye, hogy szoftveresen ki-be kapcsolható. és a gázösszetétel is megválasztható egy-egy pásztázáson belül, elemekre, elemcsoportokra. A mérési ciklus ideje kissé megnövekszik, de lehetővé válik az addig

molekulaion-zavarás miatt kizárt elemek meghatározása. A módszer általánosan alkalmazható kis felbontású kvadrupol ICP-MS-készülékekben.

Nagy felbontású ICP-MS-készülék (felbontóképesség: 10000) alkalmazása

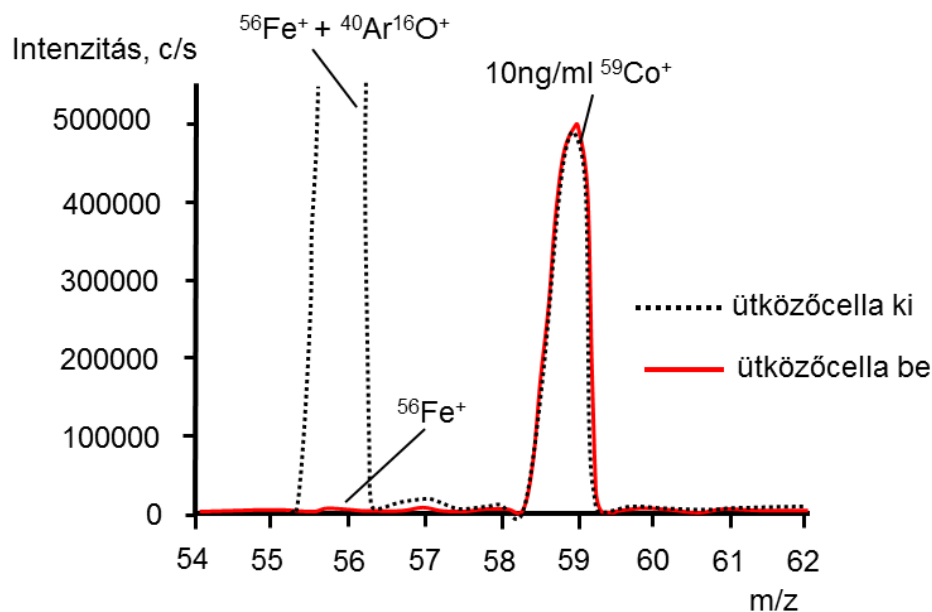
A készülék felbontása elegendő a fémionok és molekulaionok kissé eltérő tömegének megkülönböztetésére és ezzel a molekulaion-zavarás eliminálására.

2.6.6. Ütközőcella felépítése és alkalmazása kvadrupol ICP-MS-készülékekben

A molekulaion-zavarások kiküszöbölése alapvető fontosságú az összetettebb mátrixú minták elemzésénél. Az ütközőcella egységben a különböző gyártók eltérő konstrukciókat alkalmaznak. Az ütközési funkció mellett fókuszáló, esetenként tömegszűrő feladatot is ellát ez az egység. Ennek megfelelően: hexapol, oktapol és kvadrupol konstrukciókkal is találkozunk. Van olyan megoldás is, ahol két külön teret alkalmaznak eltérő gázzal.

A molekulaionok szétbombázása vagy átalakítása történhet egyszerű ütközéssel (hélium) vagy ütközés és kémiai reakció alkalmazásával reaktív gázok esetén (H_2 , NH_3 , CH_4). Ezek a hatások kombinálhatók is ($\text{He} + \text{H}_2$, $\text{He} + \text{CH}_4$).

A tömegspektrumon nyomon követhetjük az ütközőcella működését a $^{56}\text{Fe}^+$ és $^{59}\text{Co}^+$ tömegszámánál (2.6.6.1. ábra). Az ütközőcella működtetésekor a $^{56}\text{Fe}^+$ helyen megszűnik a $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ molekulaion-zavarása, míg az $^{59}\text{Co}^+$ izotópra nem tapasztalunk hatást.



2.6.6.1. ábra. Ütközőcellába adagolt hélium hatása a $^{56}\text{Fe}^+$ helyen és a $^{59}\text{Co}^+$ helyen

2.6.7. Nagy felbontású ICP-MS-készülék felépítése, működése és analitikai alkalmazásai

A ICP-OES-elemanalízishez, a kritikus elemion- és molekulaion-átlapolások ideális elválasztásához $R = 300\text{--}10000$ felbontóképességű tömegspektrométerre van szükség.

A megfelelően nagy felbontásra képes ún. kettős fókuszálású (mágneses és elektrosztatikus) tömegspektrométerek csak az utóbbi 5–10 évben jelentek meg az ICP-MS-területen, és váltak verseny-

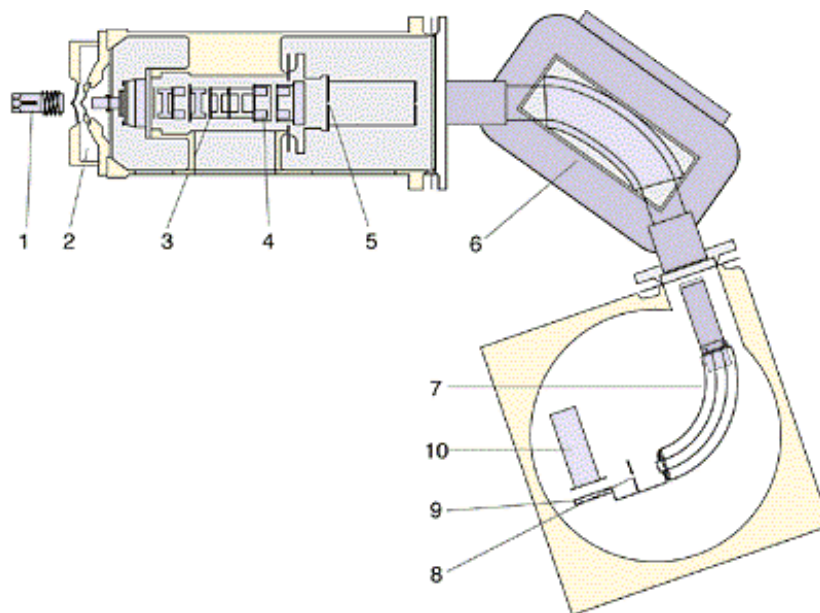
társává a kvadrupol ICP-MS-készülékeknek. A késés több technikai okra és a jelentősen magasabb árra vezethető vissza. A technikai problémák jelentős részét mára nagyrészt sikerült leküzdeni, de a kb. 2–2,5-szeres ár megmaradt.

A kettős fókuszálású, nagy felbontású HR-ICP-MS-készülék felépítését a 2.6.7.1. ábra szemlélteti. A készülék fő egységei: (1) plazma ionforrás, (2) csatoló egység, (3,4) ion fókuszáló egység, (5) belépő rés, (6) mágneses analízator egység, (7) elektrosztatikus analízator egység, (8) kilépő rés, (9) ion-elektron konverter, (10) elektronsokszorozó (detektor). Az ábrán is jól látható, hogy az ionfókuszáló egység itt sokkal bonyolultabb. A fókuszált és megfelelően felgyorsított ionnyaláb egy állítható méretű belépő résen lép be a körszelet alakú, változó erősségű mágneses térrel működtetett, mágneses analízator egységbe. Itt az ionokat a mágneses mező m/z -tól függően eltérő körpályára kényszeríti és így csak egy kis szűk tömegtartományba eső ionnyaláb lép át az elektrosztatikus analízator egységbe. Ebben az ionok kinetikus energiája szerinti elválasztás valósul meg. A kilépő résen, amely állítható és mindig azonos méretű a belépő réssel, egy adott szűk tömegtartomány jelenik meg. A mágneses mező és elektrosztatikus mező megfelelően szinkronizált állításával tudjuk a tömegtartomány pásztázását elvégezni, azaz a kiválasztott ionok szelektív mérésére beállítani a készüléket. A kilépő rés után elhelyezett ion-elektron konverteren a felületbe becsapódó ionok elektronkilépést idéznek elő, és ezeket az elektronokat számláljuk az elektronsokszorozóval.

A HR-ICP-MS-készülékek általános jellemzését az 2.6.7.1. táblázatban foglalatuk össze.

m/z tartomány	1–300 amu
Pásztázási sebesség (elvi)	3000 amu / s (0-300 amu, 0,15-0,2 s)
Felbontóképesség, $R = m/\Delta m$	max. 10000, állítható: kis felbontás: 300–400 közepes felbontás: 3000–4000 és nagy felbontás: 8000–10000
Felbontás ($\Delta m I = 10\%$ -nál) nagy felbontás = 0,001 amu	a felbontás növelésével jelentősen csökken az intenzitás 100%-ról kb. 2%-ra
Elemizotópok átlapolása	nagy felbontású üzemben is megmarad
Molekulaion-zavarás	nagy felbontású üzemben sok esetben megszűnik

2.6.7.1. táblázat. Kettős fókuszálású HR-ICP-MS-készülékek jellemző paraméterei



2.6.7.1. ábra. Kettős fókuszálású ICP-MS-készülék felépítése: (1) plazma ionforrás, (2) csatoló egység, (3, 4) ionfókuszáló egység, (5) belépő rés, (6) mágneses analízator egység, (7) elektrosztatikus analízator egység, (8) kilépő rés, (9) ion-elektron konverter, (10) elektronsokszorozó

A sok technikai fejlesztésnek köszönhetően a HR-ICP-MS-készülékek a kiváló felbontás mellett a pásztázási sebességben, stabilitásban, kimutatási határban és mintaelemzési sebességben sem maradnak le jelentősen a kvadrupol ICP-MS-készülékektől. Ha nagyszámú elemet mérünk, akkor célszerű az elemeket felbontási igény szerint csoportosítani és külön beállításnál mérni.

3. OPTIKAI MOLEKULASPEKTROSKÓPIA

3.1. ULTRAIBOLYA-LÁTHATÓ (UV-VIS) SPEKTROSKÓPIA

Az ultraibolya, illetve a látható fény tartománya 10–350 nm, valamint 350–780 nm között van. Az ebbe a hullámhossztartományba tartozó sugárzás hatására a molekulák kötéseinek elektronjai, illetve a molekula egyes atomjaihoz (például: O, N, S, P, halogének) tartozó **magános elektronpár egyik elektronjának gerjesztése** következhet be. Ugyanakkor, mint azt a 1.1.3. fejezetben megírtuk, az elektronátmenettel egyidejűleg számos rezgési, illetve forgási átmenet is gerjesztődik. Gőzfázisban, kis nyomáson gyakran megfigyelhető a sávok vibrációs finomszerkezete, kondenzált fázisban (szilárd, folyadék) azonban nem, mert a kondenzált fázisban a „molekulasűrűség” három nagyságrenddel nagyobb, és a molekulák egymás között kialakuló kölcsönhatása miatt a vonalak és sávok elmosódnak, a spektrum strukturáltsága csökken, illetve eltűnik.

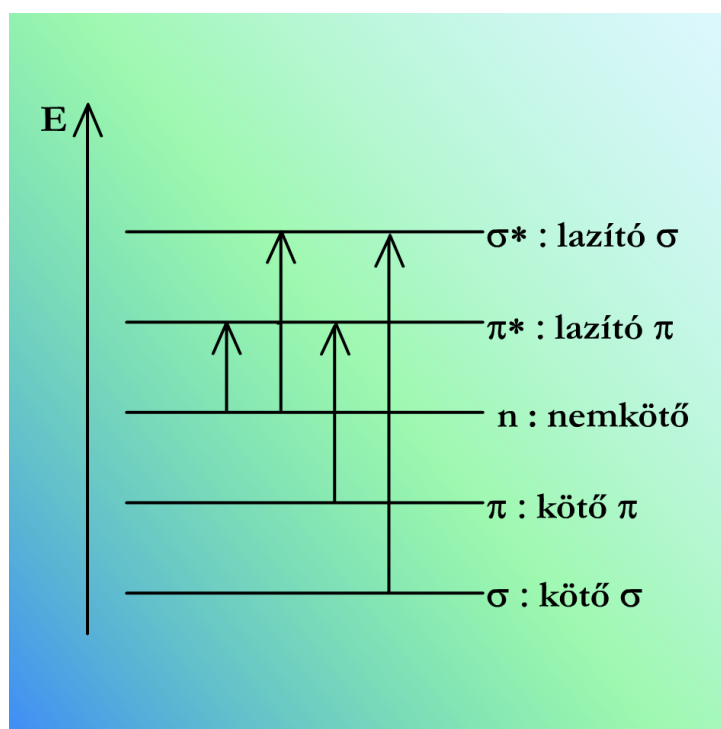
3.1.1. Molekulák energiaátmenetei

Az elektrongerjesztésben részt vevő, könnyen gerjeszthető elektront tartalmazó atomcsoportot **kromofóroknak** nevezzük.

Az **auxokróm** csoportok önmagukban jól detektálható sugárzást nem abszorbeálnak, de a kromofór csoportokkal kölcsönhatásba lépve (például: induktív, mezomer és sztérikus effektus) megváltoztatják

- azok abszorpciós hullámhosszát:
 - hullámhossz növekedése: **batokróm** eltolódás,
 - hullámhossz csökkenése: **hipszokróm** eltolódás,
- vagy az abszorpciós sáv intenzitását:
 - abszorbancia növekedése: **hiperkróm** eltolódás,
 - abszorbancia csökkenése: **hipokróm** eltolódás.

A molekulában a gerjesztés során az alábbi elektronátmenetek játszódhatnak le:



3.1.1.1. ábra. A molekulában a gerjesztés során lejátszódható elektronátmenetek

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ átmenet

- Az átmenet az egyszeres kötésben részt vevő elektron gerjesztésekor megy végbe.
- Az átmenet gerjesztésére nagy energiájú, távoli ultraibolya sugarak alkalmasak.
- **Általában nem vizsgálhatóak**, mert a gerjesztéshez szükséges sugárzás hullámhossza 200 nm alatt van és a levegőben lévő oxigén σ -kötésének, illetve az üvegből készült mintatartó elnyelése lehetetlenné teszi a mérést.
 - Kvarcból készült mintatartóval nitrogénatmoszférában vagy vákuumban valamivel alacsonyabb hullámhosszakon lehet mérni. Ugyanakkor a $\sigma \rightarrow \sigma^*$ átmenet gerjesztésekor gondolni kell arra is, hogy az elektronnak a lazítópályára kerülésekor a kötés tulajdonképpen megszűnik, a molekula széteshet, mert már nincs energianyereség a kötést létrehozó két atom egy-egy atompályájának energiájával szemben.

 $\pi \rightarrow \pi^*$ átmenet

- Az átmenet gerjesztéséhez kisebb energia szükséges, ez az átmenet a telítetlen kettős és hármas kötések tartalmazó vegyületekre jellemző.
- A konjugáció növekedésével a HOMO- (legmagasabb, még elektronnal betöltött molekulapálya) és a LUMO- (legalacsonyabb, elektront már nem tartalmazó molekulapálya) pályák közti energiakülönbség csökken, az abszorpciós maximum hullámhossza növekszik, a látható tartomány felé tolódik el. Ennek köszönhető például a β -karotin és egyúttal a sárgarépa színe.

 $n \rightarrow \pi^*$ és $n \rightarrow \sigma^*$ átmenetek

- Mindkét átmenet olyan vegyületekben lehetséges, melyekben van olyan atom, mely nemkötő magános elektronnal rendelkezik.
 - Az $n \rightarrow \pi^*$ átmenet esetében ez az atom kettős kötésben, illetve heteroaromás gyűrűben található (C=O, C=N, piridin), míg
 - $n \rightarrow \sigma^*$ átmenet esetében egyes kötéssel kapcsolódik a molekulához (alkoholok, éterek, alkil/aril-halogenidek).

Az átmeneti dipólus momentum és az elektrongerjesztés valószínűsége megszabja az ún. kiválasztási szabályokat, hogy mikor megengedett vagy tiltott két molekulapálya között az elektronátmenet. A különböző spin multiplicitású állapotok között az átmenet (szingulett \rightarrow triplett) tiltott, azonosak között megengedett. Elektronátmenet olyan pályára megengedett, melynek ugyanolyan szimmetriája van, mint az alapállapot szimmetriája és amelynek több csomósíkja van, mint az alapállapotú pályának. Ortogonális, azaz egymásra merőleges pályák közti átmenetek (pl. C=O, $n \rightarrow \pi^*$) tiltottak. Az elektronátmenetek megengedett vagy tiltott jellege az abszorpciós sávok intenzitásában nyilvánul meg ($\epsilon_{\text{megengedett}} = 10^3 - 10^4 \frac{\text{dm}^3}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$; $\epsilon_{\text{tiltott}} = 10^1 - 10^2 \frac{\text{dm}^3}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$).

3.1.2. Az UV-VIS-spektrumok felvételének körülményei

Ultraibolya és látható molekuláspektrumokat leginkább elegyekről és oldatokról, ritkábban gázokról, esetenként vékony rétegekről (napszemüveglencse, fóliák) készítene.

- Gáz- és gőzállapotú minta esetén az anyagot speciális gázküvettaiba töltik.
- Illékony folyadékok 1–2 cseppjét fedéllel lezárható folyadékküvetta aljára mérik be, megvárják, míg beáll az egyensúly a folyadék és gőzfázis között, és ezután veszik fel a spektrumot.

Az oldatokat vízzel vagy szerves oldószerrel készítik, jellemzően a $10^{-5} - 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$, illetve $1 - 50 \frac{\text{mg}}{\text{dm}^3}$ koncentrációtartományban.

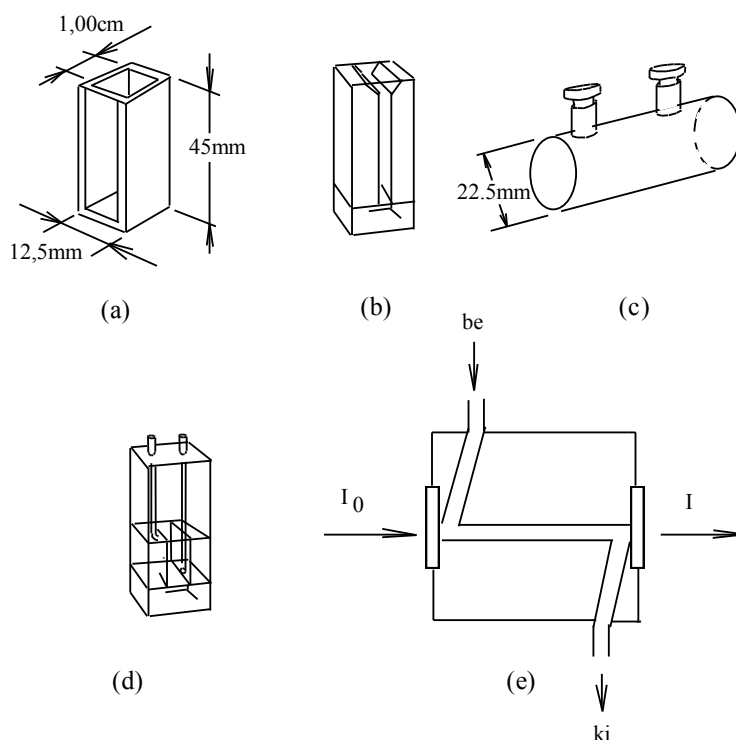
- Mivel az oldószer a mérendő komponensnél nagyságrendekkel nagyobb koncentrációban van jelen, ezért fontos, hogy **olyan hullámhosszon kell mérni, ahol az oldószer elnyelése elhanyagolható**.
- Az alábbi táblázat néhány oldószer ún. határ (záró) hullámhosszait (cut-off wavelength) tartalmazza, **melyeknél kisebb hullámhosszakon az oldószer nem használható**.
- Fontos továbbá, hogy az **oldószer nagy tisztaságú legyen, ne tartalmazzon az adott tartományban elnyelő szennyeződést**.

Oldószer	λ [nm]	Oldószer	λ [nm]	Oldószer	λ [nm]	Oldószer	λ [nm]
aceton	330	dimetil-szulfoxid	265	metanol	205	szén-diszulfid	380
acetonitril	190	1,4-dioxán	216	nitrometán	380	szén-tetraklorid	265
benzol	280	ecetsav	260	N,N-dimetil-acetamid	268	tetrahidrofurán	220
1-butanol	210	etil-alkohol	204	N,N-dimetil-formamid	270	toluol	285
ciklohexán	205	n-heptán	197	n-pentán	190	2,2,2-trifluor-etanol	190
dietil-éter	215	hexadekán	200	piridin	315	2,2,4-trimetil-pentán	207
1,2-diklór-etán	226	n-hexán	195	1-propanol	205	víz	190
diklór-metán	239	kloroform	245	2-propanol	205	o-xilol	290

3.1.2.1. táblázat. Spektrális minőségű oldószerek záró hullámhossz értékei,

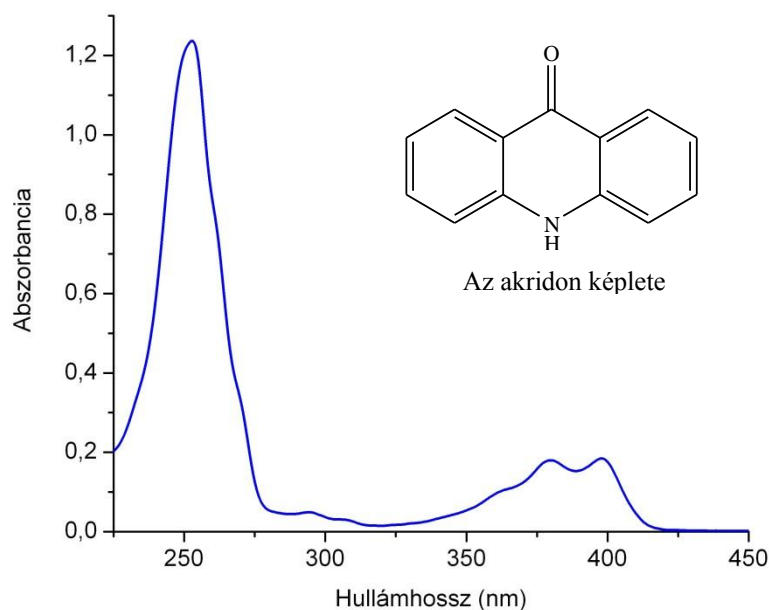
$$A = 1 (T = 0,1); l = 1\text{cm, vízzel szemben}$$

A méréseket 0,20 – 5,00 cm hosszúságú kvarcküvetében (UV-VIS), üvegeküvetében (VIS) vagy műanyag küvetében (VIS) végzik. A különböző feladatokhoz eltérő konstrukciójú küvetákat használnak.



3.1.2.1. ábra. Ertérő konstrukciójú küveták

A 3.1.2.2. ábra az akridon UV-VIS-spektrumát mutatja. A spektrum széles jeleit tanulmányozva és azt a tényt figyelembe véve, hogy már sok millió molekula ismert, megállapítható, hogy a **módszer nem alkalmas molekulák szerkezetének meghatározására**. A minta és referenciaanyag spektrumának összehasonlításával annyi eldönthető, hogy a minta azonos lehet a referenciaanyaggal vagy sem, de azonosítás így sem lehetséges, mert például egy, a kromofór csoporttól távoli metilcsoport/etilcsoport cserének nincs jelentős hatása a spektrumra. Léteznek olyan ún. inkrementummódszerek, amelyekkel az abszorpciós maximum hullámhossza számításokkal becsülhető, ezek segíthetnek annak eldöntésében, hogy a spektrum mennyire felel meg az adott molekula szerkezetének.



3.1.2.2. ábra. Az akridon UV-VIS-spektruma
 UNICAM UV4-100 spektrométer, oldószer = metanol,
 $c = 20 \mu\text{M}$; $l = 1\text{cm}$ (kvarcküvetta)

A mennyiségi kiértékelést a Bouguer–Lambert–Beer-törvény alkalmazásával végzik. A moláris abszorpciós koefficiens és az abszorbanciaérték, amelyet az adott készüléken kellő pontossággal meg lehet határozni, megadják a minta legkisebb meghatározható koncentrációját.

Példa

Mennyi az acetofenon (fenil-metil-ke-ton) legkisebb meghatározható mennyisége, ha $\varepsilon_{240\text{ nm}} = 13000 \frac{\text{dm}^3}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$, a meghatározási határhoz tartozó abszorbanciaérték $A = 0,02$ és a fény útja küvetában $l = 1\text{ cm}$?

Megoldás: A Bouguer–Lambert–Beer-törvény alapján felírható, hogy:

$$c = \frac{A}{\varepsilon \cdot l} = \frac{0,02}{13000 \frac{\text{dm}^3}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \cdot 1\text{ cm}} = 1,54 \cdot 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$$

A pontosabb koncentrációmeghatározás céljából előfordul, hogy széthúzzák az abszorbanciaskálát. Ha a mintaoldatnak kicsi a transzmittanciája (nagy az abszorbanciája), a spektrométer $T = 0\%$ értékét a szokásos módon a fény útját elzárva állítják be, de a $T = 100\%$ értéket nem az oldószerre, vagy a vak próbára, hanem a mérendő komponenst a mintaoldatnál kisebb koncentrációban tartalmazó oldatra állítják be. Ugyanakkor, ha a mintaoldat transzmittanciája túl nagy, akkor a $T = 0\%$ értéket a mérendő komponenst a mintaoldatnál nagyobb koncentrációban tartalmazó oldatra, a $T = 100\%$ értéket az oldószerre, vagy a vakpróbára állítják be. Amennyiben a mintaoldat transzmittanciája a skála közepére esik, akkor a $T = 0\%$, illetve $T = 100\%$ értéknek a mérendő komponenst a mintaoldatnál nagyobb, illetve kisebb koncentrációban tartalmazó oldat felel meg. Mindhárom esetben célszerű kalibrációs módszerrel dolgozni, sőt a második és harmadik esetben szükséges is, mert ezekben az esetekben a Bouguer–Lambert–Beer-törvény nem érvényes.

3.1.3. *Eltérések a Bouguer–Lambert–Beer-törvénytől*

A Bouguer–Lambert–Beer-törvény azonban más esetekben sem használható. Töményebb oldatok esetén az abszorbancia értéke függ az oldat törésmutatójától:

$$A = \varepsilon \cdot \frac{n}{(n^2 + 2)^2} \cdot l \cdot c = \varepsilon' \cdot l \cdot c.$$

Ha az oldat koncentrációja $10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$, vagy annál kisebb, akkor az oldat törésmutatója állandónak tekinthető.

Híg oldatok esetén is tapasztalható eltérés a Bouguer–Lambert–Beer-törvénytől, amely fizikai, illetve kémiai okokkal magyarázható.

Nem szigorúan monokromatikus a fény

A fizikai okok közé tartozik, hogy a Bouguer–Lambert–Beer-törvény szigorúan csak monokromatikus sugárzásra érvényes. A **monokromátor** által kiválasztott sugárzásnak azonban mindig van valamekkora sáv szélessége, a λ_1 ; λ_2 ; λ_i hullámhosszakon ε_1 ; ε_2 ; ε_i moláris abszorpciós koeficiens érvényes. A valóságban széles elnyelési sávok esetén ez a hiba általában nem nagy, a rendszer formálisan követi a Bouguer–Lambert–Beer-törvényt, de éles, keskeny sávok esetén már jelentős lehet. A hiba csökkentése céljából **célszerű az elnyelési sáv maximumához tartozó hullámhossz mérni**, ahol a moláris abszorpciós koeficiens értékek a legkevésbé térnek el egymástól. Szintén fizikai hibaforrás a reflexióból származó intenzitáscsökkenés, amely mindig előfordul, amikor a fény két eltérő törésmutatójú közeg közötti határon halad át. Merőleges beesést feltételezve a beeső fény szóródó hányada (f):

$$f = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2.$$

Hőmérséklet ingadozása

A **hőmérséklet változása** is befolyásolhatja az abszorpciós sáv maximumához tartozó hullámhosszat, a sáv alakját és intenzitását. Kisebbségi hőmérsékleten az abszorpciós sávok élesebbek, ugyanis a gerjesztett forgási és rezgési nívók száma és betöltöttsége csökken. A hiba jelentős lehet, ha a mérés nem az abszorpciós sáv maximumához tartozó hullámhosszon történik, csökkentése céljából javasolt a mérendő oldat hőmérsékletét ± 1 °C határon belül tartani. A mérőberendezés egységei is okozhatják a Bouguer–Lambert–Beer-törvénytől való eltérést, a fényforrás intenzitása, a detektor érzékenysége, vagy a jelfeldolgozó egység intenzitása is változhat az idő függvényében. A detektorban termikus zaj keletkezik, melynek oka az elektronok termikusan indukált mozgása a detektor áramkörökben. Fotokatódot tartalmazó detektorok esetén véletlen elektronemisszió is bekövetkezhet a detektorban. Amennyiben a detektor üvegbúraja káliumot is tartalmaz, a ^{40}K izotóp β -bomlásakor keletkező elektron detektorba csapódása is zajt okoz.

Kémiai okok

A Bouguer–Lambert–Beer-törvénytől való eltérés kémiai okai a vizsgált oldatban lejátszódó disszociációs, asszociációs, komplexképződési és szolvatációs folyamatok.

- A $\text{HA} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{A}^-$ egyensúly alapján disszociáló HA gyenge sav és a keletkező A^- anion moláris abszorpciós koeficiensei egy adott hullámhosszon általában eltérnek, így a mért abszorbancia már nem egyezik meg a bemérési koncentrációból számítható értékkel, hanem a két forma abszorbanciájának az összege:

$$A = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot l \cdot c_{\text{HA}} + \varepsilon_{\text{A}^-} \cdot l \cdot c_{\text{A}^-},$$

$$A = \varepsilon_{HA} \cdot l \cdot (1 - \alpha) \cdot c + \varepsilon_{HA} \cdot l \cdot \alpha \cdot c,$$

ahol α a disszociációfok,

c a mért anyag összkoncentrációja az oldatban.

A gyenge sav disszociációja viszont a pH függvénye. Ha az oldat nagyon savas, nagyon lúgos vagy pufferolva van, a disszociált és disszociálatlan forma aránya változatlan, de nem pufferolt oldatban a disszociációfok a hígítással változik.

- Ugyanez történik a $B + H^+ \rightleftharpoons BH^+$ egyensúllyal leírható gyenge bázis (B) protonálódása során.
- Hasonló a helyzet fémionok komplexálódása esetén. A fémion (M^{n+}) és a semleges ligandum (L) között 1:1 összetételű komplex képződése esetén az $M^{n+} + L \rightleftharpoons ML^{n+}$ reakció játszódik le. A fémiont és a ligandumot azonos mennyiségben bemérve, a komplex stabilitási állandója:

$$K = \frac{c_{ML^{n+}}}{c_L \cdot c_{M^{n+}}} = \frac{(1 - \alpha) \cdot c}{(\alpha \cdot c)^2} = \frac{(1 - \alpha)}{\alpha^2 \cdot c},$$

$$\alpha^2 \cdot c \cdot K + \alpha - 1 = 0,$$

$$\alpha = \frac{-1 \pm \sqrt{1^2 + 4 \cdot K \cdot c}}{2 \cdot K \cdot c}.$$

- A fenti egyenletekből következik, hogy hígítással a komplex disszociációja nőni fog. Az adott hullámhosszon mért abszorbancia az alábbi módon írható fel:

$$A = \varepsilon_{ML^{n+}} \cdot l \cdot c_{ML^{n+}} + \varepsilon_L \cdot l \cdot c_L,$$

$$A = \varepsilon_{ML^{n+}} \cdot l \cdot K \cdot c_{M^{n+}} \cdot c_L + \varepsilon_L \cdot l \cdot c_L,$$

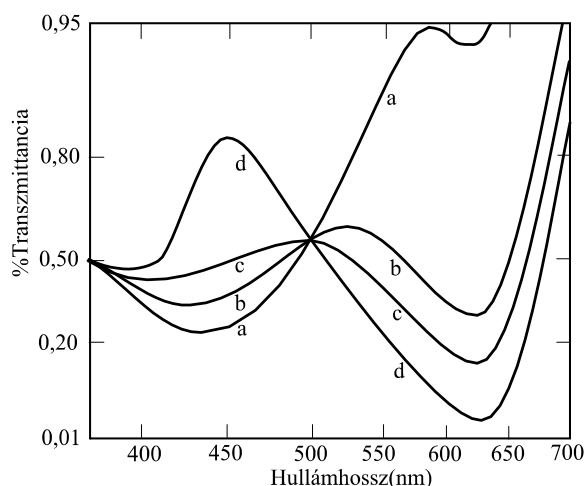
$$A = (\varepsilon_{ML^{n+}} \cdot K \cdot c_{M^{n+}} + \varepsilon_L) \cdot l \cdot c_L.$$

- Az összefüggésből látható, hogy a ligandum jelentős feleslege esetén, amikor a komplexálódás ellenére c_L értéke állandónak tekinthető, valamint ha $\varepsilon_{ML^{n+}} \cdot K \cdot c_{M^{n+}} \gg \varepsilon_L$, akkor a **mért abszorbancia arányos a fémion koncentrációjával**.

Izobesztikus pont

- Ha a kémiai egyensúly mindkét partnere („A” és „B”) abszorbeálja a sugárzást,
- és található olyan λ_1 , ahol $\varepsilon_A > \varepsilon_B$,
- valamint olyan λ_2 , ahol $\varepsilon_A < \varepsilon_B$,
- akkor a $\varepsilon_A(\lambda)$ görbék folytonossága miatt lennie kell legalább egy olyan hullámhossznak, ahol $\varepsilon_A = \varepsilon_B$, azaz az $\varepsilon_A(\lambda)$ és $\varepsilon_B(\lambda)$ görbék metszik egymást.

Ezt a metszéspontot izobesztikus pontnak nevezzük. Az izobesztikus pont megjelenését mutatja a következő ábra.



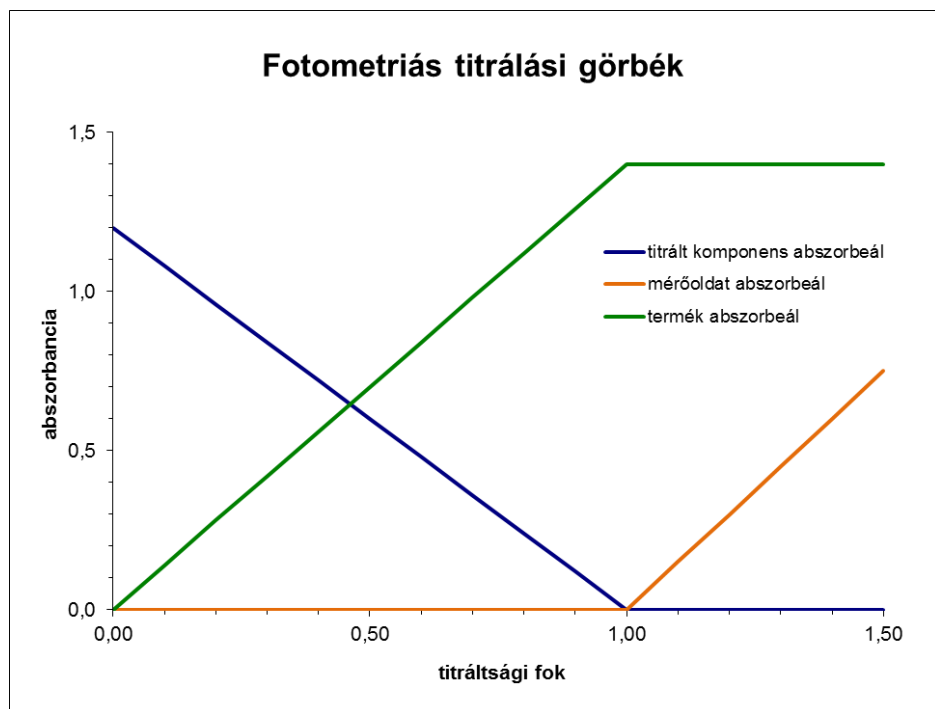
3.1.3.1. ábra. Izobesztikus pont (501 nm). A brómtimolkék spektruma különböző pH-értékeken (a: pH=5,45, b: pH=6,95, c: pH=7,50, d: pH=11,6)

A vegyület összkoncentrációjának meghatározásánál a **pH hatását kiküszöbölhetjük**, ha a **meghatározást az izobesztikus pontnak megfelelő hullámhosszon végezzük**. Ugyanakkor az izobesztikus ponton a mérés érzékenységevel arányos moláris abszorpciós koefficiens értéke kisebb, valamint megnő a sugárzás nem monokromatikus voltából és a hőmérséklet változásából következő hiba (lásd fizikai okok).

3.1.4. Az UV-VIS-spektroszkópia gyakorlati alkalmazásának lehetőségei

Az UV-VIS spektrofotometriát több területen alkalmazzák. Noha önállóan nem alkalmas szerves vegyületek szerkezetének meghatározására, de más spektroszkópai módszerekkel:

- infravörös spektroszkópiával,
- tömegspektrometriával,
- magmágneses rezonancia (NMR) spektroszkópiával együtt alkalmazva igen.
- Ugyanakkor kiválóan alkalmazható kromatográfias detektorként az oszlopon már elválasztott (és így azonosított) szerves vegyületek koncentrációjának meghatározására. Diódasoros detektort alkalmazva háromdimenziós spektrum (idő, hullámhossz, abszorbancia) vehető fel. A kromatográfias csúcs elején és végén felvett spektrumok összehasonlításával a csúcs tisztasága vizsgálható.
- Titrálási folyamatok végpontja is meghatározható UV-VIS-spektrofotometriával, ha a titrálható komponens, a mérőoldat és a titrálás során keletkezett termék közül legalább az egyik abszorbeál az UV-VIS-tartományban (fotometriás titrálás). A módszer előnye, hogy alkalmazható akkor is, ha az indikátor átcsapása nem elég éles, vagy más színes anyag is jelen van az oldatban.



3.1.4.1. ábra. Fotometriás titrálási görbék

- Az UV- és VIS-tartományban elnyelő szerves vagy szervetlen anyagok mennyiségi meghatározását is el lehet végezni. Többkomponensű elegy alkotóinak koncentrációja is meghatározható, ha legalább annyi hullámhosszon történik a mérés, ahány fényt abszorbeáló komponens van az oldatban. Az abszorbancia additív mennyiség, így mindegyik hullámhosszra érvényes a 1.1.4. fejezetben megadott összefüggés:

$$A = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i \cdot l \cdot c_i.$$

Ha lehetséges, célszerű a komponensek számát meghaladó számú hullámhosszon végezni a méréseket. Ekkor túlhatározott lesz az egyenletrendszer (például 4 komponens, 6 hullámhosszon mért abszorbanciaértékek, azaz 6 egyenlet 4 ismeretlennel), ezért előfordulhat, hogy eltérő hullámhosszakon mért abszorbanciaértékekből számolt koncentrációk kissé különböznek. Ebben az esetben a komponensek legvalószínűbb koncentrációit regressziós analízissel lehet meghatározni. A legkisebb négyzetek módszerét alkalmazva ez azt jelenti, hogy azokat a koncentrációkat kell elfogadni megoldásként, ahol a

$$\sum_{i=1}^n (A_{\lambda_i; \text{mért}} - A_{\lambda_i; \text{számolt}})^2$$

kifejezés értéke a legkisebb lesz (n a mért hullámhosszak száma, a példában 6).

Példa

P és R vegyületek oldatait, illetve egy a két anyagot tartalmazó oldatot vizsgálták spektrofotometriásan. A mérési adatokat a mellékelt táblázat tartalmazza. Mekkora az egyes vegyületek koncentrációja a közös oldatban, ha a mérések ugyanabban a kuvettában történtek?

	$A_{365 \text{ nm}}$	$A_{470 \text{ nm}}$	c [mol/dm ³]
P	0,150	0,842	10^{-4}
R	0,684	0,088	$2 \cdot 10^{-4}$
P + R	0,721	0,604	?

Megoldás:

A tiszta anyagok oldataiból meghatározhatóak a két komponens moláris abszorpciós koefficiens - optikai úthossz szorzatai a két hullámhosszon:

$$\begin{aligned}\varepsilon_P^{365} \cdot l &= \frac{A_P^{365}}{c_P} = \frac{0,150}{10^{-4}} = 1500 \frac{dm^3}{mol}, & \varepsilon_R^{365} \cdot l &= \frac{A_R^{365}}{c_R} = \frac{0,684}{2 \cdot 10^{-4}} = 3420 \frac{dm^3}{mol}, \\ \varepsilon_P^{470} \cdot l &= \frac{A_P^{470}}{c_P} = \frac{0,842}{10^{-4}} = 8420 \frac{dm^3}{mol}, & \varepsilon_R^{470} \cdot l &= \frac{A_R^{470}}{c_P} = \frac{0,088}{2 \cdot 10^{-4}} = 440 \frac{dm^3}{mol}.\end{aligned}$$

A keverékmintára az abszorbancia additivitása alapján felírható:

$$\begin{aligned}0,721 &= 1500 \frac{dm^3}{mol} \cdot [P]_{P+R} + 3420 \frac{dm^3}{mol} \cdot [R]_{P+R}, \\ 0,604 &= 8420 \frac{dm^3}{mol} \cdot [P]_{P+R} + 440 \frac{dm^3}{mol} \cdot [R]_{P+R},\end{aligned}$$

ahol $[P]_{P+R}$: P koncentrációja a P + R oldatban

$[R]_{P+R}$: R koncentrációja a P + R oldatban.

A 365 nm hullámhosszra felírt egyenletet $\frac{8420}{1500}$ hányadossal beszorozva, majd a szorzatból a 470 nm hullámhosszra felírt egyenletet kivonva:

$$\begin{aligned}3,4432 &= 18757,5 \frac{dm^3}{mol} \cdot [R]_{P+R}, \\ [R]_{P+R} &= 1,836 \cdot 10^{-4} \frac{mol}{dm^3}.\end{aligned}$$

A kapott értéket az 365 nm hullámhosszra felírt egyenletbe visszahelyettesítve:

$$\begin{aligned}0,721 &= 1500 \frac{dm^3}{mol} \cdot [P]_{P+R} + 0,6278, \\ [P]_{P+R} &= 6,214 \cdot 10^{-5} \frac{mol}{dm^3}.\end{aligned}$$

Fémionok meghatározása

A fémionok minőségi és mennyiségi meghatározására színreakciókra alapozva érzékeny és szelektív módszereket dolgoztak ki. A **színreagens**ek olyan színtelen vagy gyengén színes komplexképző anyagok, melyek a **meghatározandó fémionnal stabilis, színes komplex vegyületet képeznek**. Ezek a komplexek éles elnyelési sávval és nagy abszorpciós koefficienssel jellemezhetők. Ha a színreagens és a képződő komplexek szerves oldószerben jobban oldódnak, mint vízben, akkor szerves oldószeres extrakció után a szerves oldószeres oldat abszorbanciáját mérik. Amennyiben a reagenssel a meghatározandó fémion mellett egyes mátrixkomponensek is fényelnyelő komplexet képeznek, akkor a mérés előtt a zavaró komponenst vagy el kell távolítani az oldatból csapadékképzéssel, vagy maszkírozószer segítségével más, a mérést nem zavaró komplexbe kell vinni, vagy oxidálva/redukálva a komplexképző képességét meg kell szüntetni. Ugyanazon elem eltérő oxidációfokú állapotai eltérő mértékben, illetve eltérő reagenssel képesek komplexet képezni

(pl.: Fe(II): reagens: 1,10-fenantrolin, pH = 4, λ = 510 nm; Fe(III):

a) reagens: SCN^- , pH = 1, λ = 490 nm,

b) reagens: szulfoszalicilsav, pH = 1–4, λ = 500 nm),

így az elemek oxidációs állapota is megkülönböztethető.

Az alábbi videó a Fe(III) ionok szulfoszalicilsavas komplexképzéssel történő meghatározását mutatja be.

VIDEÓ



3.1.4.1. videó. UV-VIS spektrofotometria: vas(III) ionok meghatározása szulfoszalicilsavval

A kationokhoz hasonlóan megfelelő reagensekkel számos anion (nitrát, nitrit, klorid, foszfát stb.) is meghatározható spektrometriás módszerrel.

A módszer alkalmazható sav-bázis disszociációs állandók meghatározására is, amennyiben a szerves molekulában olyan bázikus vagy savas rész van, mely a kromofór vagy egy auxokróm csoport részét alkotja. Ekkor az anyag spektruma az oldat pH-jától függően változik. A disszociációs állandó (pK_s vagy pK_b) meghatározásához három spektrumot kell felvenni:

- 1) savas oldatban, ahol a pH a pK_s , vagy pK_b értékétől legalább két pH-egységgel kisebb, ekkor az oldatban a protonált alak (HA , BH^+) van jelen,
- 2) bázikus oldatban, a pK_s vagy pK_b értékétől legalább két egységgel magasabb pH-értéken, ekkor az oldatban a nemprotonált alak (A^- , B) fordul elő,
- 3) pontosan ismert pH-értékű pufferoldatban, ahol a pH a pK_s közelében van, ekkor mind a protonált, mind a nem protonált forma jelen van.

Az 1) és 2) mérések eredményeként kapott spektrumokból a Bouguer–Lambert–Beer-törvény alkalmazásával meghatározhatóak a protonált és nemprotonált alak moláris abszorpciós koefficiensei. A 3) mérés eredményeként kapott spektrumból a pH-értékének, valamint a bemért gyenge sav/gyenge bázis mennyiségének ismeretében kiszámolható a protonált és nem protonált formák koncentrációja, melyeket behelyettesítve az egyensúlyi állandók képletébe K_s és K_b értéke megkapható.

Példa

Mekkora a HA egyértékű gyenge savnak a disszociációs egyensúlyi állandója, ha egy adott c koncentrációjú oldatára különböző pH-értékeknél az alábbi abszorbanciaértékek mérhetőek: pH = 7,2: $A = 0,450$; pH = 14: $A = 0,710$ és pH = 1: $A = 0,015$?

Megoldás:

pH = 1: csak HA van jelen az oldatban, azaz $c_{\text{HA}} = c$: $A = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot l \cdot c_{\text{HA}} = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot l \cdot c$, tehát $\varepsilon_{\text{HA}} = \frac{0,015}{l \cdot c}$;

pH = 14: csak A^- van jelen az oldatban, azaz $c_{\text{A}^-} = c$: $A = \varepsilon_{\text{A}^-} \cdot l \cdot c_{\text{A}^-} = \varepsilon_{\text{A}^-} \cdot l \cdot c$, így $\varepsilon_{\text{A}^-} = \frac{0,710}{l \cdot c}$;

pH = 7,2: HA és A^- is jelen van az oldatban $c_{\text{HA}} = (1 - \alpha) \cdot c$ és $c_{\text{A}^-} = \alpha \cdot c$ (α a disszociációfok):

$$A = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot l \cdot c_{\text{HA}} + \varepsilon_{\text{A}^-} \cdot l \cdot c_{\text{A}^-} = \frac{0,015}{l \cdot c} \cdot l \cdot (1 - \alpha) \cdot c + \frac{0,710}{l \cdot c} \cdot l \cdot \alpha \cdot c$$

$$A = 0,015 \cdot (1 - \alpha) + 0,710 \cdot \alpha = 0,450,$$

amiből kiszámolható, hogy: $0,695 \cdot \alpha = 0,435$ és $\alpha = 0,6259$.

$$\text{Így } K_{\text{HA}} = \frac{c_{\text{A}^-} \cdot [\text{H}^+]}{c_{\text{HA}}} = \frac{\alpha \cdot c \cdot 10^{-7,2}}{(1 - \alpha) \cdot c} = \frac{0,6259 \cdot 10^{-7,2}}{0,3741} = 1,0556 \cdot 10^{-7} \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}.$$

Példa

HA egyértékű gyenge sav disszociációs egyensúlyi állandója $10^{-5,9} \text{ mol/dm}^3$. $0,0005 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú oldatának azonos hosszúságú fényútnál mért abszorbanciaértékei: pH = 2,00: $A = 1,13$; és pH = 11: $A = 0,21$. Mekkora az abszorbancia, ha pH = 6,50?

Megoldás:

pH = 2,00: csak HA van jelen az oldatban: $\varepsilon_{\text{HA}} = \frac{1,13}{l \cdot c}$,

pH = 11: csak A^- van jelen az oldatban és $\alpha = 1$: $\varepsilon_{\text{A}^-} = \frac{0,21}{l \cdot c}$,

$$\text{pH} = 6,50: \quad K_{\text{HA}} = \frac{c_{\text{A}^-} \cdot [\text{H}^+]}{c_{\text{HA}}} = \frac{\alpha \cdot c \cdot 10^{-6,5}}{(1 - \alpha) \cdot c} = \frac{\alpha \cdot 10^{-6,5}}{(1 - \alpha)} = 10^{-5,9} \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \quad \text{és}$$

$$\alpha \cdot 10^{-6,5} = 10^{-5,9} - \alpha \cdot 10^{-5,9},$$

amiből $\alpha = \frac{10^{-5,9}}{10^{-6,5} + 10^{-5,9}} = 0,7992$. A mérendő abszorbancia tehát:

$$A = \varepsilon_{\text{HA}} \cdot l \cdot c_{\text{HA}} + \varepsilon_{\text{A}^-} \cdot l \cdot c_{\text{A}^-} = \frac{1,13}{l \cdot c} \cdot l \cdot (1 - \alpha) \cdot c + \frac{0,21}{l \cdot c} \cdot l \cdot \alpha \cdot c = 1,13 \cdot 0,2008 + 0,21 \cdot 0,7992 = 0,3947$$

Az abszorpciós spektrometriás méréseknél a koncentráció, illetve az abszorbancia függvényében jellegzetesen változik a jel/zaj viszony, azaz a mérés relatív szórása. Az egyik fontos tényező a relatív szórás alakulásában az, hogy a mérés érzékenysége csökken a koncentráció növekedésével. A szórás alakulásában szerepe van a detektor zajának, a fényforrás zajának, az erősítő és jelfeldolgozó egység zajának, a küvetaváltásból eredő szórásnak és a leolvasás felbontásából adódó szórásnak. Kis abszorbanciáknál a jel/zaj viszonyban a detektor zaja a domináns, közepes abszorbanciáknál a jelszórás válik meghatározóvá, míg a nagy abszorbanciáknál csökken a jelszórás szerepe és a sötétáram zaja kerül előtérbe.

3.2. LUMINESZCENCIASPEKTROSKÓPIA

A lumineszcencia jelensége alatt (1.1.2. fejezetben leírtak alapján) azt a jelenséget értjük, amikor az anyag az elnyelt energiát elektromágneses sugárzás kibocsátásával adja le.

- Ha a gerjesztéshez szükséges energiát **UV-VIS-sugárzás** biztosítja **fotolumineszcenciáról** van szó, melyen belül megkülönböztethető
 - **fluoreszcencia** és
 - **foszforeszcencia** (lásd a 1.1.2. fejezetet).
- Ha **kémiai reakció** során jön létre gerjesztett állapotú közti termék, vagy termék, akkor a jelenséget **kemilumineszcenciának** nevezik,
- míg az **elektrokemilumineszcencia** során **elektrolízissel** előállított gyökkationok és gyökkanionok reagálnak semleges, gerjesztett állapotú termék képződése közben.

3.2.1. Fluoreszcenciaspektroszkópia

A fluoreszcenciaspektroszkópiában a gerjesztő hullámhossz és az emittált hullámhossz általában különbözik (a gerjesztési maximum és az emissziós maximum különbségét nevezik „Stokes’ shift”-nek), amely lehetővé teszi, hogy a jelhez tartozó zajszint majdnem nulla legyen, másrészt egy gyenge jelet jobb közvetlenül mérni, mint két erős jel különbségeként, ahogy az UV-VIS-spektroszkópiában kis abszorbanciaértékek mérése során történik. Bár viszonylag **kevés molekula fluoreszkál**, de ez egyben előny is, mert a fluoreszkáló molekula nem fluoreszkáló molekulák között elválasztás nélkül meghatározható, valamint nem fluoreszkáló molekula kémiai reakcióval (például származékképzéssel) fluoreszkáló molekulává alakítható.

A minta fluoreszcenciáját befolyásoló tényezők

Általában a delokalizált π -elektronokat tartalmazó **aromás vegyületek** és többszörösen konjugált **kettős kötést tartalmazó vegyületek** (poliének) képesek fluoreszkálni vagy foszforeszkálni.

Az UV-VIS-spektroszkópiánál leírtaknak megfelelően (lásd a 3.1.1. fejezetet) a konjugáció növekedésével a fluoreszcens sáv hullámhossza növekszik, a látható tartomány felé tolódik el (benzol: 270–310 nm, naftalin: 315 nm, antracén: 370–430 nm).

A fluoreszcencia erősségét befolyásolja a molekulaszervezet **merevsége**. A merev molekulaszervezet:

- egyrészt megakadályozza, hogy a molekula a felvett energiát sugárzásmentesen (rezgési-forgási energiák megváltozásával) adja le,
- másrészt rögzítheti a koplanáris szerkezetet.

A **bifenilben** a két benzolgyűrű összekapcsoló kötés mentén forgás lehetséges. A bifenil a planáris konformációban képes fluoreszkálni, de a molekula gyakran nem ebben a konformációban tartózkodik. A **fluorénban** a két benzolgyűrű egy-egy *orto* helyzetű szénatomját metilencsoport kapcsolja össze, amely rögzíti a planáris konformációt és egyúttal ötszöröseire növeli a fluoreszcencia kvantumhatásfokát. A molekula merevsége és ezáltal fluoreszcenciája növelhető diamágneses fémionnal (Zn(II), Mg(II)) történő kelátképzéssel. Ugyanakkor paramágneses fémionok (Cu(II), Ni(II)) nem a molekula fluoreszcenciáját, hanem a foszforeszcenciáját segítik elő.

Bizonyos **lantanidák** (Dy, Eu, Sm, Tb) sói és kelátjai, a szerves vegyületekhez hasonlóan, képesek lumineszkálni. A lantanidakelátok fluoreszcenciájára a nagy „Stokes’ shift” (> 200 nm), a vékony, vonalszerű emissziós sávok, valamint a gerjesztett állapot hosszabb élettartama (100 μ s – pár ms) jellemző.

A fényt a ligandum kromofór csoportja nyeli el, a ligandum gerjesztett állapotba kerül. A rezgési relaxáció után a ligandum a gerjesztett elektron spinátfordulása miatt triplett állapotba kerül, ami azért jelentős, mert a ligandum csak triplett állapotban tudja az energiáját a központi ionnak átadni.

Az „intersystem crossing” valószínűségét növelendő gyakran nehézionokat (például Cs^+) adnak az oldathoz. Az energiaátadás következtében az f pályájú elektronjai kerülnek energetikailag magasabb atompályára, melyről az alapállapotba fénykibocsátás közben térnek vissza. (Természetesen a leírt folyamattal versenyezve a ligandum a gerjesztési energiáját sugárzásmentesen, vagy foszforeszcenciával is leadhatja.)

A molekulába bevitt szubsztituensek is befolyásolják a fluoreszcencia intenzitását és a spektrumban megjelenő sáv hullámhosszát. Elektronküldő, „+” mezomer effektussal rendelkező csoportok (OH, O-alkil, NH_2 , NH-alkil) általában növelik a fluoreszcencia intenzitását és a sáv hullámhosszát, míg elektronvonzó, „-” mezomer effektussal rendelkező csoportok legtöbbször a fluoreszcencia intenzitását csökkentik (COOH , NHCOCH_3) vagy teljesen kioltják (quenching, NO, NO_2). A molekulába nehézatomot, például halogénatomot beépítve az atomtömeg növekedésével a molekula fluoreszcenciája csökken, míg foszforeszcenciája növekszik (belső nehézatom-effektus). A nehézatomnak akkor is van ilyen hatása, ha nem a molekulába építik be, hanem az oldószerben oldják fel (külső nehézatom-effektus). Amennyiben a szubsztituens savas vagy bázikus jellegű, a fluoreszcencia pH-érzékennyé válik. Az anilin fluoreszkál, de a savas oldatban belőle képződő kation nem. Mind az alap-, mind a gerjesztett állapotban lévő molekula részt vehet sav-bázis folyamatokban, de a két esetben a K_s - vagy K_b -értékek nagyságrendekkel különbözhetnek, ezért a mérendő minta- és standardoldatok pH-értékét ugyanarra az értékre kell beállítani.

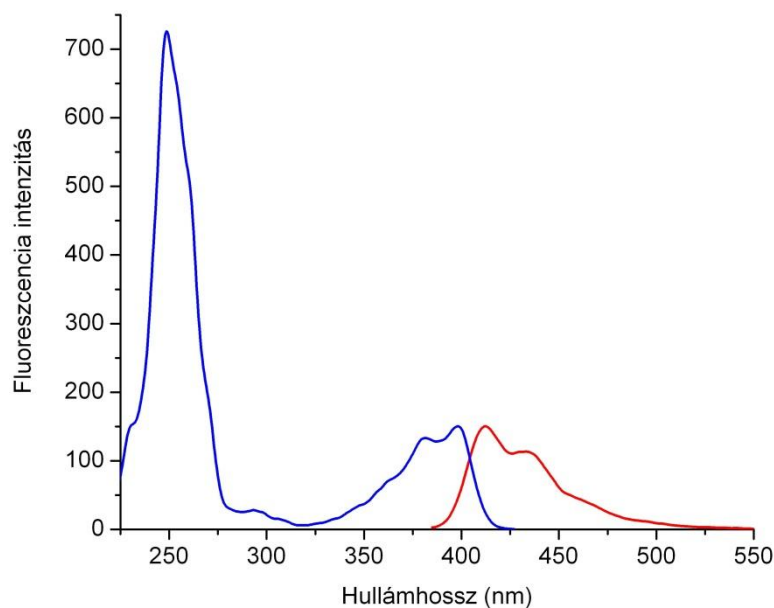
A hőmérséklet növelésével a molekulák mozgékonyasága és ezáltal az ütközések gyakorisága növekszik, ami általában a fluoreszcencia csökkenését okozza.

Eltérő oldószerek különböző kölcsönhatásokba léphetnek a vizsgálandó molekulával, ezáltal befolyásolják annak fluoreszcenciáját is. Az erős van der Waals kölcsönhatásra képes oldószerek megnövelik az ütközéses együttlét idejét, ezzel csökkentik a fluoreszcencia intenzitását.

A fluoreszcenciaspektrumok felvételének körülményei, mennyiségi meghatározás

A gerjesztő hullámhossz változtatásával megkereshető az a hullámhossz, ahol a minta már fluoreszkál. Ezután a gerjesztő hullámhosszt állandó értéken tartva és az emittált hullámhosszt változtatva megkereshető az a hullámhossz, ahol a fluoreszcencia maximális. Utána az emittált és gerjesztési hullámhossz értékét felváltva rögzítve és változtatva az optimális mérési beállítás meghatározható. Amikor a fluoreszcenciaspektrumot úgy veszik fel, hogy a gerjesztési hullámhosszt változtatják, és az emissziós hullámhosszt rögzítik, akkor gerjesztési, ellentétes esetben emissziós fluoreszcenciaspektrumról van szó.

A 3.2.1.1. ábra az akridon gerjesztési és emissziós fluoreszcenciaspektrumát mutatja. Az emissziós fluoreszcenciaspektrumot összehasonlítva az akridon UV-VIS-spektrumával látható, hogy a fluoreszcenciaspektrum sávjai nagyobb hullámhosszaknál jelentkeznek és „tükröképei” az abszorpciós spektrum sávjainak. Ennek oka, hogy az alap- és a gerjesztett állapot rezgési szintjei, valamint a rezgési szintek közötti energiakülönbségek hasonlóak.



3.2.1.1. ábra. Az akridon gerjesztési (kék) és emissziós (piros) fluoreszcenciaspektrumai Perkin Elmer LS 50B spektrofluoriméter, oldószer = metanol, $c = 1\mu\text{M}$ (kvarcküvetta)

Az 1.1.4. fejezetben le lett vezetve, hogy a koncentráció és a fluoreszcencia intenzitása közötti összefüggés lineáris, amennyiben az abszorbancia, illetve a koncentráció kicsi. A linearitás a 10^{-8} – 10^{-4} mol/dm³ koncentrációtartományban érvényes. A linearitás megszűnését okozhatja a vakpróba fluoreszcenciája, a kioltás (quenching), az oldószer abszorpciója vagy a túl nagy mintakoncentráció. Utóbbi következménye, hogy az I_f -koncentráció görbének maximuma van és a derékszögrendezés helyett frontális elrendezést alkalmaznak (1.2.4. fejezet). A maximum miatt a koncentrációgörbe adott tartományában egy I_f -értékhez két koncentráció tartozik. Ekkor az oldatot hígítani kell, majd újra megmérni a minta fluoreszcenciáját. A fluoreszcencia értékének növeléséből vagy csökkenéséből kiderül, hogy a mintakoncentráció a maximum melyik oldalán van. Nagy mintakoncentráció esetén előfordulhat, hogy egy gerjesztett és egy alapállapotban lévő molekula komplexet képez (excimer: „excited dimer”), melyek szétesésekor fénykibocsátás történik és két alapállapotú molekula keletkezik. A kisugárzott fény hullámhossza azonban nagyobb a gerjesztett monomer által kisugárzott fény hullámhosszánál. A jelenséget önkkioltásnak („selfquenching”) nevezik, hatása az oldat hígításával csökkenthető.

A fluoreszcenciaspektroszkópia gyakorlati alkalmazásának lehetőségei

A fluoreszcencia, hasonlóan az UV-VIS spektroszkópiához, minőségi meghatározásra önmagában nem alkalmas. Mennyiségi meghatározásra kalibrációs vagy standard addíciós módszert alkalmaznak. A módszerrel vizsgálhatóak fluoreszkáló anyagok, nem fluoreszkáló, de kémiai reakcióban fluoreszkáló terméket eredményező anyagok, továbbá olyan anyagok, melyek fluoreszkáló komponenssel reakcióba lépve olyan terméket eredményeznek, mely már nem fluoreszkál. A kioltás mértékéből meghatározható az anyag koncentrációja.

Indirekt módszerrel is meghatározható a mintaoldat koncentrációja: az oldatba nem fluoreszkáló fémkomplexet adva a meghatározni kívánt anyag kiszorítja a ligandumot, amennyiben erősebben tud kötődni a komplex fémionjához. A szabad ligandum fluoreszcenciája arányos a mennyiségével, amely viszont arányos a meghatározni kívánt anyag mennyiségével.

Fluoreszcenciával mérhetőek poliaromás szénhidrogének, illetve a poliaromás szénhidrogéneket tartalmazó kőolajszármazékok, melyek mennyiségének ismerete a környezetben káros hatásaik miatt (rákkeltő hatás, íz- és szagrontó hatás akár $1:10^{10}$ hígításban is, víz felületén szétterülve megakadályozzák az oxigén vízbe jutását, az emberi szervezetben felhalmozódnak) rendkívül fontos. A fluoreszcencias módszerek nem teszik lehetővé az adott kőolaj összes komponensének külön-külön

történő meghatározását, ezért az összehasonlítható eredményekhez a módszereket egységesíteni kell, a mérések során a kalibrációs görbét valamilyen kőolaj standardre (például motorolaj) vonatkoztatják. A kőolaj poliaromás komponensei erősen fluoreszkálnak, ezért a módszer igen kis koncentrációk (0,01 ppm) mérésére is alkalmas. A levegő szennyezőkomponensei közül a kén-dioxid fluoreszkál, mennyisége ppb-ppm tartományban mérhető.

Elegyek komponensei is meghatározhatóak fluoreszcenciával. Amennyiben a gerjesztési spektrumban található olyan hullámhossz, amelyen csak az egyik komponens abszorbeál, vagy az emissziós spektrumban létezik olyan sáv, mely egy másik komponens emissziójához rendelhető, akkor az adott komponensek szelektíven meghatározhatóak. A legtöbb esetben azonban a komponensek gerjesztési és emissziós spektrumai is átfednek. Ebben az esetben felveszik az elegy és az egyes komponensek fluoreszcenciaspektrumát és számítógépes programok segítségével határozzák meg az egyes komponensek mennyiségét.

A másik lehetőség azon alapszik, hogy az egyes komponensek fluoreszcenciájának időtartama különböző. A korszerű műszerek már lehetővé teszik igen kis időintervallumok mérését. A mintát igen rövid lézerpulzusokkal gerjesztik és mérik a fluoreszcencia lecsengését az idő függvényében. A fluoreszcencia lecsengése a legtöbbszor elsőrendű:

$$I_{f,i} = I_{f,i}(0) \cdot e^{-k_i \cdot t} \text{ és } I_{f,\Sigma} = \sum_{i=1}^n I_{f,i},$$

ahol $I_{f,i}(0)$ az i . komponens által fluoreszkált fény intenzitása a $t = 0$ pillanatban,

k_i az elsőrendű sebességi állandó,

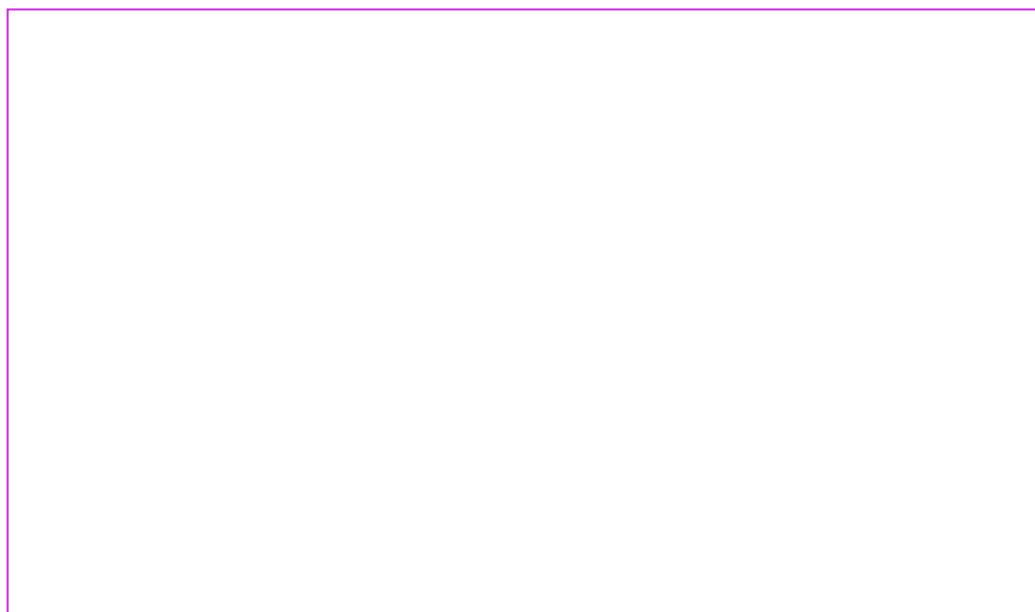
$I_{f,\Sigma}$ az összes fluoreszkált fény intenzitása,

n a komponensek száma.

A mérés során kapott válaszgörbék matematikai módszerekkel felbonthatóak. A lantanidaionok fluoreszcenciájának nagy „Stokes' shift” értéke, vonalszerű emissziója és a fluoreszcencia hosszabb élettartama lehetővé teszi a zavaró jelek hullámhossz és idő szerinti kiküszöbölését, ami bonyolult mátrixok (például biológiai minták) esetén jelentős előny. A lantanidaionok kelátjait használják fluorimetriás immunoassay eljárásokban is.

Összegzésként elmondható, hogy a fluoreszcenciamérések érzékenyek a pH-ra, a hőmérsékletre, a kioltó anyagok jelenlétére és az oldószer összetételére. Az előnyös kimutatási határ és a nagy dinamikus tartomány ellenére nehezen számítható robusztus módszernek, mert gyakran kis változásoknak is nagy következményei vannak, így nagyon kell figyelni a mérési körülmények betartására.

Az alábbi videón a kinin fluorometriás mérése látható.

VIDEÓ*3.2.1.1. videó: Kinin meghatározása tonikból fluorimetrián***3.2.2. Foszforeszcenciaspektroszkópia**

A foszforeszcencia élettartama hosszabb a fluoreszcenciánál, ezért a sugárzásmentes energialeadással járó folyamatok szerepe annyira megnő, hogy szobahőmérsékletű oldatban foszforeszcencia nem figyelhető meg. Foszforeszcencia méréséhez a mintát a cseppfolyós nitrogén hőmérsékletére hűtik le (-196 °C). Nehézionok (például Cs^+) hozzáadásával a foszforeszcencia felerősíthető. A módszert elsősorban ott alkalmazzák, ahol a mátrixban több fluoreszkáló komponens van, melyek zavaró hatása a foszforeszcencia hosszabb élettartama miatt kiküszöbölhető. A foszforiméterek ugyanolyan részegységekből állnak, mint a fluoriméterek, sok készülék mindkét spektrum felvételére képes.

3.2.3. Kemilumineszcencia

Kemilumineszcencia során a minta fénykibocsátása kémiai reakció eredménye. A kémiai reakció eredményeként keletkező termék gerjesztett állapotban van, a gerjesztett állapot és az alapállapot közti energiát leadhatja fénykibocsátással, vagy ütközés során átadhatja egy másik molekulának, és a fényt ez utóbbi molekula sugározza ki. A fénykibocsátás történhet mind az UV-VIS, mind az infravörös tartományban. Amennyiben a fénykibocsátás biológiai rendszerben jelentkezik, biolumineszcenciáról van szó. A kémiai reakciók a legtöbbször lassabban játszódnak le a fluoreszcenciánál, ezért a kemilumineszcencia mérése felhasználható a kémiai reakció sebességének a mérésére. A mérés akkor kezdődik, amikor az utolsó reagenst is hozzáadják mérőcellába és addig tart, míg a kibocsátott sugárzás a háttérsugárzás értékére csökken.

A legtöbb mennyiségi meghatározás során nem szükséges a kibocsátott sugárzás mennyiségének abszolút meghatározása. Mennyiségi meghatározásra kalibrációs görbét vagy standard addíciót alkalmaznak és vagy a csúcsmagasságot, vagy a csúcs alatti területet mérik a koncentráció függvényében. Kemilumineszcenciás eljárások léteznek levegőszennyeződések, fémnyomok, szerves anyagok meghatározására, gáz- és folyadékfázisú titrálások végpontjelzésére.

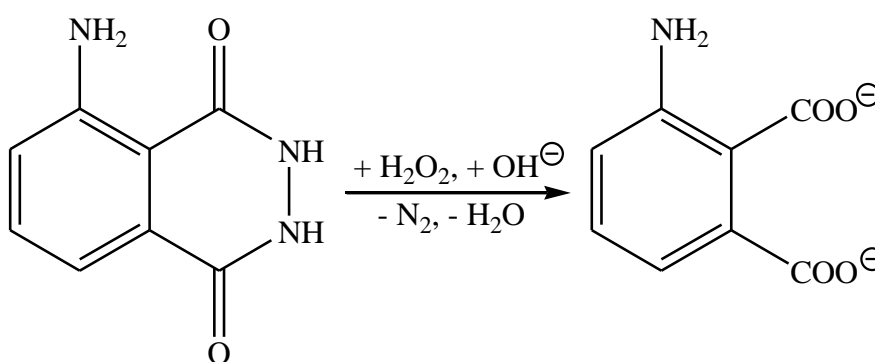
A gerjesztett NO_2 -molekula alapállapotba történő visszatérése során a vörös és infravörös tartományban sugároz ki fényt. Ez az alapja a nitrogénoxid analízátorok működésének. A készülékbe áramló levegőt két ágra osztják. Az első ágban az



folyamat játszódik le, míg a második ágban először a levegőben lévő NO_2 -tartalmat fémkatalizátor jelenlétében NO molekulává redukálják, amit ezután szintén ózonnal reagáltatnak. Így mérik a dohányfüst és a gépjárművek NO_x -tartalmát. Bár a fenti reakció NO -felesleg esetén alkalmas ózon mennyiségi meghatározására, de a legtöbb ózonanalizátor az ózon és az etilén kemilumineszcenciás reakcióján alapul, ekkor a 435 nm hullámhosszon fellépő fénysugárzás intenzitását mérik.

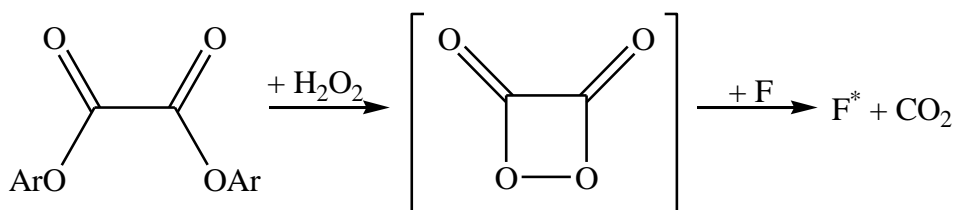
A levegőben lévő kénvegyületek (SO_2 , H_2S , szerves szulfidok, merkaptánok) környezetszennyezőek. Mennyiségük meghatározható levegő-hidrogén lángban fellépő kemilumineszcenciás reakciójuk alapján.

Folyadékfázisban sok meghatározás alapja a mérni kívánt komponens és a luminol (3-aminoftálhidrazid) kemilumineszcenciás reakciója. A luminol lúgos közegben oxidálószerrel peroxid köztiterméken keresztül reagál 3-aminoftalát és kék fény keletkezése közben:



A reakció hidrogénperoxid meghatározására és így közvetve oxidáz enzim mérésére is alkalmazható. Fémnyomok katalizálják a hidrogénperoxid és a luminol reakcióját, ezáltal ppb szinten meghatározhatóak. A reakciók során a luminol, a hidrogénperoxid koncentrációját, valamint a pH-értékét ellenőrizni kell.

Szintén jelentős a peroxioxalát iniciálta kemilumineszcencia. Oxálsavdiészter és hidrogénperoxid reakciójában gerjesztett dioxetándion keletkezik, mely energiáját képes fluoroformnak (F) átadni:



Katalizátorral (például dimetilaminopiridin) a reakció felgyorsítható. Különböző fluoroformok alkalmazásával az emissziós hullámhossz változtatható.

A fotometriás titrálásokhoz (3.1.4. fejezet) hasonló módon kemilumineszcenciás titrálások is végezhetőek, az emittált sugárzás intenzitását ábrázolják a mérőoldat fogyásának függvényében.

A biolumineszcencia legismertebb példája a szentjánosbogár fénykibocsátása, melynek során a luciferint a luciferáz enzim oxigén és ATP jelenlétében gerjesztett állapotú oxiluciferinné oxidálja. Az oxiluciferin az energiát 560 nm hullámhosszúságú foton kisugárzásával adja le. A reakció felhasználható ATP meghatározására, még femtomolnyi (10^{-15}) mennyiségben is.

3.3. INFRAVÖRÖS (IR) SPEKTROSKÓPIA

Az infravörös spektroszkópia a vizsgálandó minta és a $780 \text{ nm} - 300 \text{ }\mu\text{m}$ ($\tilde{\nu} = 12820 \text{ cm}^{-1} - 33 \text{ cm}^{-1}$) hullámhossztartományába eső elektromágneses sugárzás kölcsönhatásának vizsgálatán alapul. Ez a tartomány három részre osztható:

- a **közeli** infravörös (NIR, $\tilde{\nu} = 12820 \text{ cm}^{-1} - 5000 \text{ cm}^{-1}$),
- a közepes, vagy más néven **analitikai** infravörös (MIR, $\tilde{\nu} = 5000 \text{ cm}^{-1} - 400 \text{ cm}^{-1}$) és
- a **távoli** infravörös (FIR, $\tilde{\nu} = 400 \text{ cm}^{-1} - 33 \text{ cm}^{-1}$) tartományokra.

Bár a közeli infravörös tartomány látható (UV-VIS) tartomány felőli oldalán lévő sugárzás energiája még elegendő lehet az elektrongerjesztés előidézéséhez, de a teljes infravörös tartományra a molekulák rezgési átmeneteinek, illetve a rezgési átmenetekre szuperponálódó forgási átmeneteknek a megváltozása jellemző.

3.3.1. Molekulák rezgései

A molekulák állandó mozgásban vannak.

- Egyrészt maga a molekula mozog és (egy adott tengely körül) forog a térben,
- másrészt a molekulát alkotó atomok mozognak a molekulán belül.

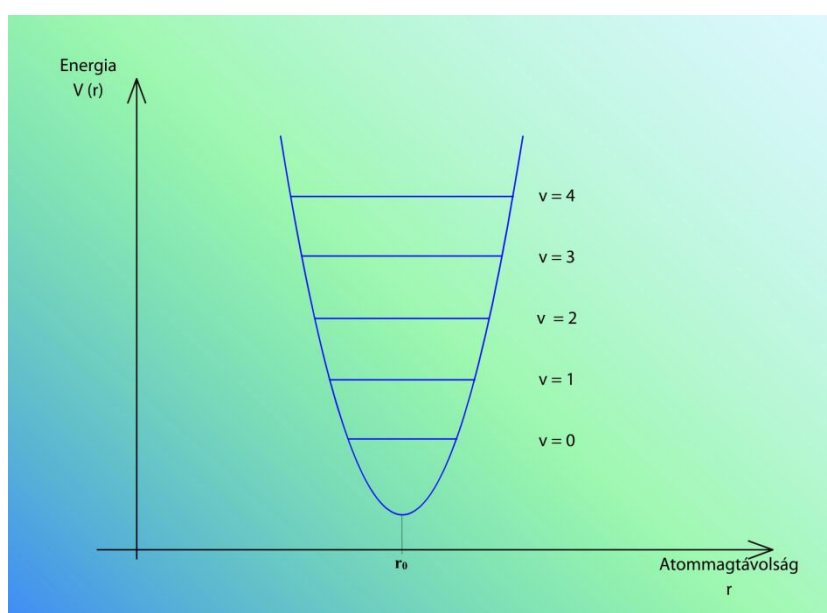
Utóbbi esetben az atomok közti távolságok és az atomok által bezárt szögek változnak meg. Ez a változás történhet:

- a kötések mentén történő **elfordulással** (forgás),
- illetve a **kötéshosszak** vagy a **kötésszögek** periódikus **növekedésével** és **csökkenésével**, ami az atommagok rezgésének a következménye.

Egy N atomból álló molekulának $3N-6$ (lineáris molekula esetében $3N-5$) normálrezgése van, amikor a molekula összes atomja megegyező frekvenciával, azonos vagy ellentétes fázisban és eltérő amplitúdóval rezeg.

Kétatomos molekula rezgései

A molekulák rezgései legegyszerűbben kétatomos molekulán tanulmányozhatóak. A kétatomos molekulának egyetlen rezgése van, melyben a két atommag a kötés mentén egymáshoz közeledik, vagy távolodik.



3.3.1.1. mozgó ábra. Harmonikus oszcillátor

A rezgés első közelítésben harmonikusnak tekinthető (3.3.1.1. mozgó ábra), azaz az egyensúlyi helyzetbe visszahúzó erő az egyensúlyi magtávolságtól (r_0) való eltéréssel arányos (Hooke-törvény) és Newton második törvényének értelmében megegyezik a tömeg és a gyorsulás szorzatával. A gyorsulás viszont az út második deriváltja, így:

$$F = -k \cdot x = m \cdot a = m \cdot \frac{d^2x}{dt^2},$$

ahol k a kötés nyújtására/összenyomására jellemző erőállandó,

x az egyensúlyi helyzettől való eltérés,

m a tömeg,

a a gyorsulás,

míg a negatív előjel azt jelzi, hogy az erő iránya a kitérés irányával ellentétes.

Az egyenlet megoldása csak olyan függvény lehet, amelynek második deriváltja az eredeti függvény és $(-k/m)$ hányados szorzatával azonos. Ennek a feltételnek csak a periodikus szinusz- vagy koszinuszfüggvény felel meg, így a molekula két atomjának kitérése az idő függvényében az alábbiak szerint adható meg:

$$x_1 = A_1 \cdot \sin(2 \cdot \pi \cdot \nu \cdot t) \text{ és } x_2 = A_2 \cdot \sin(2 \cdot \pi \cdot \nu \cdot t),$$

ahol A az amplitúdó, azaz az atom maximális kitérése a rezgés során.

Mivel mindkét atom mozog a rezgés során, felírható:

$$k \cdot (x_2 - x_1) = m_1 \cdot \frac{d^2x_1}{dt^2} = m_1 \cdot A_1 \cdot 4 \cdot \pi^2 \cdot \nu^2 \cdot \sin(2 \cdot \pi \cdot \nu \cdot t) \text{ és}$$

$$-k \cdot (x_2 - x_1) = m_2 \cdot \frac{d^2x_2}{dt^2} = m_2 \cdot A_2 \cdot 4 \cdot \pi^2 \cdot \nu^2 \cdot \sin(2 \cdot \pi \cdot \nu \cdot t),$$

a negatív előjel a két atom ellentétes irányú mozgását jelzi.

A két egyenletbe $(x_2 - x_1)$ helyére a megfelelő szinuszos kifejezést behelyettesítve levezethető, hogy a rezgés frekvenciája:

$$\nu = \frac{1}{2 \cdot \pi} \sqrt{k \left(\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \right)} = \frac{1}{2 \cdot \pi} \sqrt{k \left(\frac{m_2}{m_1 \cdot m_2} + \frac{m_1}{m_1 \cdot m_2} \right)} = \frac{1}{2 \cdot \pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}},$$

ahol μ az ún. redukált tömeg $\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$.

Az egyenletből látható, hogy a rezgés frekvenciája:

- a két atom tömegétől,
- valamint az erőállandótól függ.

A 3.3.1.1. mozgó ábra mutatja, hogy a rezgési energia $E = h \cdot \nu_f \cdot (v + 1/2)$, nem folytonos, és a vibrációs kvantumszám szerint csak meghatározott értékeket vehet fel. A vibrációs kvantumszám $v = 0, 1, 2, 3, \dots$; de a $v = 0$ rezgési kvantumszámnál is van rezgés ($E = 1/2 \cdot h \cdot \nu_f$), a gerjesztés során a rezgés amplitúdója nő.

Az 1.1.3.2. ábrán azonban látszik, hogy a potenciálgörbe nem szimmetrikus és így a rezgés nem harmonikus, hanem **anharmonikus**, a megnyújtott kötést az egyensúlyi helyzetbe visszahúzó erő kisebb az összenyomott kötést az egyensúlyi helyzetbe visszatoló erőnél. Ez logikus, hiszen a kötéshossz kétszeresére történő megnyújtásához a kötés disszociációs energiájánál több energiát nem lehet befektetni, míg az ellentétes eset a két atommag „egymásba préselését” jelentené.

Az anharmonikus potenciálgörbe következményeként nem csak a $\Delta v = \pm 1$ kiválasztási szabály alapján várható jelek, hanem – bár kis valószínűséggel és ebből következően kis intenzitással – a $\Delta v = \pm 2, \pm 3, \dots$ átmeneteknek megfelelő jelek (**felharmonikus jelek, vagy felhangok**) is megjelennek a spektrumban.

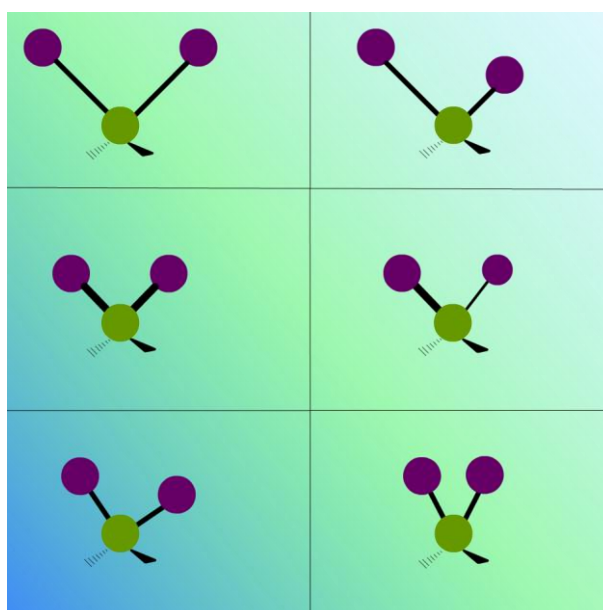
- Az első felhang az illető normálrezgés frekvenciájának valamivel kevesebb, mint kétszeresénél jelentkezik, a sáv intenzitása egy nagyságrenddel kisebb a megfelelő alprezgezésénél.
- Hasonló mértékű intenzitáscsökkenés érvényes az első és második felhang között is.

Többatomos molekula rezgései

A rezgések anharmonikus volta miatt több atom rezgése esetén az **alprezgeések csatolódnak**, összegük és különbségük is megjelenhet (kombinációs sávok).

- Csatolódás léphet fel **közeli hullámszámú alprezgeés és felhang** között is (**Fermi-rezonancia**), ekkor a két rezgés sávja a spektrumban eltávolodik egymástól, valamint intenzitásuk kiegyenlítődik, azaz az alprezgeés rovására a felhang intenzitása erősen megnövekszik.
- Csatolódhat **két hasonló vagy azonos hullámszámú**, egymás közelében rezgő **atomcsoport**, különösen, ha a rezgő csoportoknak közös atomjuk is van (pl. imid, anhidrid, CH_2 , NH_2 , stb.). Ennek eredményeként sávfelhasadás lép fel, megváltozik az egyes rezgések frekvenciája és intenzitása.

A rezgéseket csoportosítani lehet: a vegyértékrezgéseknél (jelzés: ν) a rezgés a kötés hossz tengelye mentén történik, a molekulában a kötésszögek nem változnak.



3.3.1.2. mozgó ábra. Metilénecsoport lehetséges vegyérték- és deformációs rezgései

A metilénecsoportban a központi szénatomhoz két hidrogénatom kapcsolódik. Amennyiben a hidrogénatomok vegyértékrezgésük során ugyanakkor közelednek a szénatomhoz, illetve távolodnak attól, akkor a vegyértékrezgés **szimmetrikus** (ν_s), ellenkező esetben **aszimmetrikus** (ν_{as}).

A deformációs rezgésekben (jelzések: β , δ , γ) a vegyértékszög változik. Megkülönböztetünk **síkbeli**, illetve **síkra merőleges rezgéseket** attól függően, hogy pl. egy $-\text{X}-\text{Y}-\text{Z}$ molekulaegységben a három atom eredeti síkjában, vagy arra merőlegesen rezeg.

Ha a metilénecsoport atomjai a rezgés során végig eredeti síkjukban maradnak és a két hidrogénatom egyszerre mozog a vegyértékszög belseje felé, akkor **ollózó** („scissoring”, β_s), ellentétes esetben **kaszáló** („rocking”, β_{as}) rezgésről van szó. Utóbbi esetben az atomcsoport síkjában nincs vegyértékszögváltozás.

Előfordulhat, hogy a rezgés során a két hidrogénatom az eredeti síkból arra merőlegesen kilép, ha mindkét hidrogénatom ugyanakkor mozog az eredeti sík elé, illetve mögé, azt a rezgést **bólogató** („wagging”, γ_s) rezgésnek, az ellentétes esetet **torziós** („twisting”, γ_{as}) rezgésnek nevezik.

A lehetséges rezgések közül a legtöbb energiát a kötések megnyújtásába és összenyomásába kell befektetni, ezért a vegyértékrezgések erőállója a legnagyobb, így ezek jelennek meg a legnagyobb hullámszámoknál a spektrumban. A metilén csoport az ún. „nem lineáris XY₂” csoportba tartozik (az X és Y betűk az eltérő atomi minőségre utalnak), ezenkívül léteznek „XY” (például HCl), „lineáris XY₂” (CO₂), „XY₃” (metil csoport, NH₃), „XY₄” és gyűrűs vegyületekre jellemző csoportok, a csoportokhoz tartozó vegyértékrezgésekkel és deformációs rezgésekkel.

Az infravörös tartomány felosztása

A leírtak alapján érthetővé válik az **infravörös tartomány felosztása** is:

- a **közeli infravörös** tartományban a vegyértékrezgések felhangjainak és kombinációs rezgéseinek sávjai,
- a **közép vagy analitikai infravörös** tartományban a vegyértékrezgések és deformációs rezgések sávjai,
- míg a **távoli infravörös** tartományban a csak nehézatomot tartalmazó csoportok deformációs rezgéseire, kristályrácsrezgésekre és a forgási átmenetekre rendelhető sávok jelennek meg.

Meg kell azonban jegyezni, hogy a molekulában lévő rezgések közül nem biztos, hogy mindegyik sávja megtalálható az infravörös spektrumban. Egy sáv akkor lép fel, ha a hozzá rendelhető rezgés közben megváltozik a molekula dipólusmomentumának valamelyik komponense. A CO₂ molekula szimmetrikus vegyértékrezgése során a dipólusmomentum nem változik meg, mert a két oxigénatom egyszerre közeledik a központi szénatomhoz, így a rezgés sávja nem jelenik meg a spektrumban.

3.3.2. Az infravörös spektrumok felvételének körülményei

Az infravörös spektroszkópia az infravörös sugárzás

- **elnyelésén** (transzmissziós módszer),
- **visszaverésén** (reflexiós módszer), illetve
- **kibocsátásán** (emisszió) alapul.

A gyakorlatban a transzmissziós infravörös spektroszkópia legelterjedtebb, de kiterjedt alkalmazása van a reflexiós technikának is. Az alkalmazott mérés technikától függetlenül **elvárás**, hogy

- a spektrométer **fényútba eső egységeinek**, így a mérőcella anyagának is az infravörös sugárzás számára **átlátszónak**,
- a vizsgálandó **mintával** szemben **kémiaiilag inertnek**, valamint szilárdnak kell lennie.

Sajnos, nem ismert olyan anyag, amely teljesen megfelelné a követelményeknek. A 3.3.2.1. táblázatban néhány, az infravörös spektroszkópiában használt anyag és alkalmazhatósági tartományuk van feltüntetve.

Név	$\tilde{\nu} \left[\frac{1}{\text{cm}} \right]$	n ($\lambda = 2 \mu\text{m}$)	Megjegyzés
AgBr	20000–286	2,2	fényérzékeny, vízben nem oldódik
AgCl	25000–435	2,0	fényérzékeny, vízben nem oldódik
Al ₂ O ₃	50000–1540	1,76	zafír
BaF ₂	50000–870	1,46	vízben nem oldódik, törékeny, nem homályosodik
C	25000–33	2,37	gyémánt, 1900–2600 cm ⁻¹ tartományban elnyelési sávok vannak, alkalmazható korrozív közegben és nagy nyomáson is
CaF ₂	66700–1110	1,40	Irtran-3, vízben nem oldódik, legtöbb savnak, lúgnak és nagy nyomásnak ellenáll, nem homályosodik
CdTe	5000–360	2,67	Irtran-6, oxidációra érzékeny
CsI	40000–200	1,74	lágú, vízdoldható, higroszkópos,
KBr	40000–400	1,53	vízdoldható, nagyon lágú, homályosodik
MgO	25600–1060	1,71	Irtran-5, 1500 °C-ig alkalmazható
NaCl	40000–600	1,52	vízdoldható, nagyon lágú, homályosodik
Polietilén (HD)	600–33	1,54	távolsági IR számára, néhány oldószer oldja
SiO ₂	62500–2700	1,4	kvarc
TlBr-TlI	20000–250	2,37	KRS-5, lágú, nyomás alatt deformálódik, lúgdoldható, mérgező, ATR
ZnS	17500–680	2,26	Irtran-2
ZnSe	10000–560	2,45	Irtran-1, kemény, törékeny és inert, ATR

3.3.2.1. táblázat. Infravörös tartományban küvettaablakként használható anyagok alkalmazhatósági tartományai

Minta halmazállapota

A transzmissziós infravörös spektroszkópiával **vizsgálhatóak** gázok, folyadékok és szilárd anyagok is.

Gázok estében a méréseket olyan gázküvetákban végzik, melyeknek a két végén tükröző felületeket alakítottak ki, ezáltal a fény úthossza a mintában akár 100 m is lehet. Ezzel kompenzálható, hogy a tiszta anyag koncentrációja gázfázisban mintegy ezredrésze a kondenzált fázisbeli értékénél. A nagy úthosszú cellákkal ppm nagyságrendű tartományban lehet méréseket végezni. Az érzékenység a nyomás növelésével is fokozható, ekkor azonban a sávok kiszélesednek, ami a sávok forgási finomszerkezetének elvesztéséhez vezethet. Az ilyen méréseknél a reprodukálhatóság miatt a teljes nyomást egy adott értékre szokás kiegészíteni inert gáz (például nemesgáz) hozzáadásával. A módszer nemcsak gázok, hanem a mérés hőmérsékletén magas tenzióval rendelkező anyagok vizsgálatára is alkalmas, bár a legtöbb szerves anyag gőznyomása túl kicsi ahhoz, hogy gázfázisban mérhető legyen. Hátránya, hogy nehezen miniaturizálható az úthossz csökkentése nélkül, valamint jelentős vízgőztartalmú minták nem vizsgálhatóak.

Folyadékfázisban a minta **vizsgálható oldatként**, vagy – amennyiben a minta maga is folyadék – hígítatlanul. Utóbbi esetben a mintából egy-két cseppet sima felületű lemezre (például KBr, NaCl) cseppentenek, majd egy másik lemezt ráhelyezve a cseppeket vékony (0,001–0,05 mm) filmmé nyomják szét („szendvics” technika). A technika nem párolgó és a lemez anyagával nem reagáló minták vizsgálatára alkalmas, és előnye, hogy nincsenek zavaró oldószer-sávok a spektrumban. Mennyiségi meghatározásra belső standard módszerrel alkalmazható, mert a filmréteg vastagsága nem reprodukálható a kellő pontossággal.

Az **oldószerben oldott minták** vizsgálata változtatható vastagságú (0,01–1 mm) küvetában történik. Az oldószerrel kapcsolatban meg kell jegyezni, hogy minden oldószernek van elnyelése az infravörös tartományban, ezért egyrészt a megfelelő oldószer kiválasztására figyelni kell, másrészt az oldószer elnyelése miatt viszonylag nagy koncentrációjú (akár 10%) oldatot kell készíteni. A víz oldószerként nem használható, mert erősen abszorbeál, valamint az alkáli-halogenid mintatartók anyagát oldja. Emiatt az alkalmazott oldószer víztartalmának 1% alatt kell lennie. Az alábbi táblázat néhány oldószer alkalmazhatósági tartományát tartalmazza.

Oldószer	$\tilde{\nu} \left[\frac{1}{\text{cm}} \right]$	$l \text{ [mm]}$
Aceton	4000–3100, 2900–1800, 1170–1100, 1080–910, 890–650	0,1
Benzol	4000–3100, 3000–1820, 1800–1490, 1450–1050, 1020–680	0,1
Ciklohexán	4000–3000, 2850–1480, 1430–910, 850–650	0,1
Diklórmétán	4000–3180, 2900–2340, 2290–1500, 1130–935	1
	4000–1285, 1245–900, 890–780, 750–650	0,1
Kloroform	4000–3100, 2980–2450, 2380–1520, 1410–1290, 1155–940, 910–860	1
	4000–3020, 3000–1240, 1200–805	0,1
Metanol	2800–1500, 1370–1150, 970–700	0,1
Nitrométán	4000–3100, 2800–1770, 1070–925, 910–690	0,1
Szén-tetraklorid	4000–1610, 1500–1270, 1200–1020, 960–860	1
	4000–820, 720–650	0,1
Tetraklór-etilén	4000–1375, 1340–1180, 1090–1015	1
	4000–935, 875–820, 745–650	0,1

3.3.2.2. táblázat. Oldószeres infravörös átérésztési tartományai (l : rétegvastagság)

Az oldószer kiválasztásánál nem szabad elfeledkezni arról, hogy az oldószer befolyásolhatja a spektrumot. Különösen igaz ez, ha a vizsgálandó minta és az oldószer hidrogénkötést képezhet.

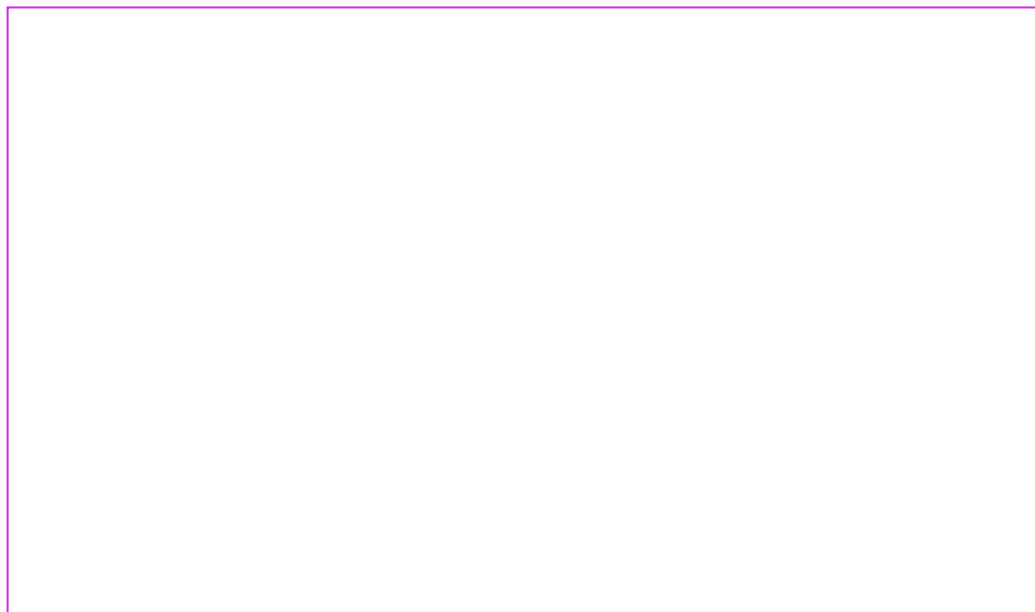
A **folyadékfázisban végzett méréseknél** a mintakonzentrációt, illetve a cellahosszat úgy kell megválasztani, hogy a transzmittancia 15–70% közé essen.

Szilárd minták a nujolos és a pasztillakészítési módszerrel vizsgálhatóak.

- A **nujolos módszernél** mintegy 1 mg finoman elporított mintát speciális paraffinolajban (ez a nujol) péppé alakítják, majd ezt a pépet két NaCl-lemez közé zárják és úgy veszik fel a spektrumot. A módszer egyszerű és jól alkalmazható a levegőre és a levegő nedvességtartalmára érzékeny (higroszkópos) minták vizsgálatára, vagy ha nem áll a rendelkezésre megfelelő oldószer. **Hátránya**, hogy a spektrumban megjelennek a nujol elnyelési sávjai is, melyek a minta sávjait elnyomhatják. A nujol és a vizsgált minta törésmutatója között nem lehet nagy különbség. Nem vizsgálhatóak olyan minták, melyek a porítás során szerkezeti változást szenvednek.
- A **pasztillakészítési technikánál** a mintát és KBr mintegy százszoros feleslegét achát-mozsárban teljesen szétdörzsölik, majd a homogén keveréket hidraulikus présbe teszik. A prést vákuum alá helyezik, elkerülendő, hogy a pasztilla gázbuborékokat tartalmazzon, majd a mintára 10–20 tonna nyomást fejtenek ki. A KBr a nyomás alatt megfolyik és 10 mm átmérőjű, 1 mm vastag, átlátszó korong keletkezik és ezt a korongot helyezik a spektrométerbe. A pasztillakészítést és az infravörös spektrum felvételét az alábbi [videó](#) mutatja be. A **technika előnye**, hogy a KBr a minták vizsgálatának szempontjából fontos infravörös tartományban átlátszó. **Nem vizsgálhatóak olyan minták**, melyek a nagy nyomás hatására átalakulnak, folyadékok, higroszkópos és nedves minták, polimerek és makromolekulák. A pasztilla vastagsága nem szabályozható, ezért mennyiségi meghatározásra belső standard módszerrel alkalmazható.

A minta úgy is vizsgálható, hogy az anyagot hevítik és a pirolízis termékek spektrumát veszik fel. A spektrumok összehasonlíthatóak ismert anyagok bomlástermékeinek spektrumaival, így a minta minőségéről közelítő információ nyerhető.

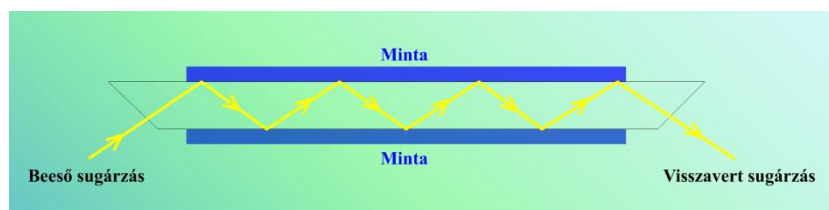
VIDEÓ



3.3.2.1. videó: KBr pasztilla készítése és infravörös spektrum felvétele

ATR-technika

A **reflexiós módszerek** közül meg kell említeni a belső reflexió, vagy más néven csillapított teljes reflexió (ATR: attenuated total reflectance, Abgeschwächte Totalreflexion) technikát.



3.3.2.1. ábra. Többszörös belső reflexió

A módszer alapja az 1.1.2. fejezetben említett **teljes visszaverődés jelensége**, azaz ha a sugárnyaláb beesési szöge (α_E) nagyobb a teljes visszaverődés határszögénél (α_H), akkor a sugárnyaláb visszaverődik a határfelületről.

Valójában a sugárzás kissé behatol a másik közegbe, mielőtt visszaverődne. Ez a kis behatolás lehetővé teszi, hogy a közeg a sugárzás egy részét abszorbeálja, így a visszavert sugárzás információt tartalmaz a közeg anyagi minőségére és összetételére.

Az ATR-egység „lelke” az infravörös sugárzásnak **átlátszó kristály** (például cink-szelenid 20000 és 650 cm^{-1} között).

- Az infravörös sugárzás a kristály egyik végén a felületre merőlegesen, a kristály alapsíkjára α_E beesési szöggel lép be. A felület úgy van kialakítva, hogy **sugárzás egyáltalán ne verődjön vissza róla.**
- A sugárzás ezután végighalad a kristályban, miközben a kristály és a kristály felületére felvitt minta határfelületéről többször is visszaverődik. Minden egyes visszaverődéskor a sugárzás d távolságnyira hatol be a mintába, d értéke a sugárzás hullámhossza, a sugárnyaláb beesési szöge, valamint a kristály és a minta törésmutatójának (n_K , n_M , α_H definíciója alapján $n_K > n_M$ kell legyen) ismeretében kiszámítható:

$$d = \frac{\lambda_{\text{vákuum}}}{2 \cdot \pi \cdot n_K \cdot \sqrt{\sin^2 \alpha_E - \left(\frac{n_M}{n_K}\right)^2}} = \frac{\lambda_K}{2 \cdot \pi \cdot \sqrt{\sin^2 \alpha_E - \left(\frac{n_M}{n_K}\right)^2}}$$

Az egyenletből következik, hogy a sugárzás **behatólási mélysége a mintába minden hullámhosszon más**, ezáltal a módszer **érzékenysége két különböző hullámhosszon eltér**.

Az infravörös tartományban d tipikus értéke 0,25 és 4 μm között van, így egy ATR-egység tulajdonképpen rengeteg kis abszorpciós egység eredőjének is tekinthető, a mérés során kapott spektrum is hasonlít a transzmissziós infravörös spektroszkópiával felvett spektrumokra.

A **technika előnye**, hogy:

- a mintaelőkészítés egyszerű, csak a kristály felületére kell felvinni a mintát,
- kis mennyiségű minta is vizsgálható,
- a kristály felületének tisztítása egyszerű.
- A módszer alkalmas porok, nem korrozív folyadékok, műanyagok, fóliák, filmek, textíliák vizsgálatára.

Hátránya, hogy:

- d értéke pontosan nem állandó, ami a mennyiségi meghatározásnál okoz problémát,
- csak a minta felülete vizsgálható és
- az alkalmazott kis mintamennyiség miatt a kimutatási határ magasabb, mint a korábban leírt módszereknél.
- A kristály felülete érzékeny lehet mechanikai sérülésekre, korrozív anyagokra. Gyémántkristályt alkalmazva ez csökkenthető, de ezek a mérőegységek drágák.

3.3.3. *Az infravörös spektrumok minőségi információtartalma*

Az **3.3.3.1. ábra** az akridon középső, analitikai infravörös tartományban felvett spektrumát mutatja. A spektrumot összehasonlítva az **3.1.2. fejezetben** bemutatott UV-VIS spektrummal, megállapítható, hogy az infravörös tartományban jóval több, eltérő intenzitású sáv jelenik meg.

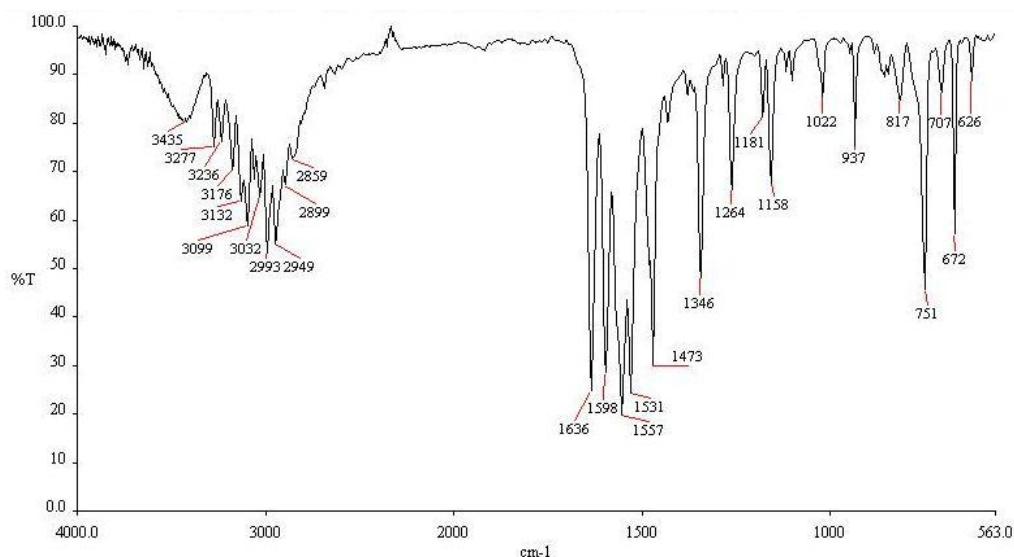
Az infravörös spektrum két részre osztható:

- a 4000–1500 cm^{-1} tartományban viszonylag kevés rezgés sávja jelenik meg,
- míg az 1500–400 cm^{-1} tartományban nagyon sok sáv található.

Komponensek azonosítása

Az utóbbi tartományt „**ujjlenyomat-tartománynak**” is nevezik, mert bár az egyes sávok külön-külön sokszor csak igen nehezen azonosíthatók, azonban ez a tartomány **nagy biztonsággal** lehetővé teszi a **vizsgált minta és a referenciaminta azonosságának meghatározását**.

A minta azonosításának megkönnyítésére ma már számítógépes **spektrumkönyvtárak** is rendelkezésre állnak, egyes könyvtárban akár 100000, vagy annál is több spektrum található. A számítógépes program könyvtárból kiválaszthatóak a minta spektrumához legjobban hasonlító spektrumok, melyek közül azonban (a mintaspektrum és a kiválasztott spektrumok mérési körülményeinek ismeretében) a felhasználóra vár a minta azonosításának feladata.



3.3.3.1. ábra. Az akridon infravörös spektruma

Perkin Elmer System 2000 FT-IR-spektrométer, MCT-detektor, optikai felbontás: 4 cm^{-1} ,
akkumulációk száma: 64, alapvonal korrigált spektrum, KBr pasztilla: 1 mg minta/300 mg KBr

Elegyek összetevőinek azonosítása az egyes komponensek átfedő sávjai miatt nehéz feladat, helyette célszerűbb az elegyek összetevőinek elválasztása például FT-IR-detektort tartalmazó folyadék-, vagy gázkromatográfiás módszerrel.

Amennyiben ez nem lehetséges, akkor az elegy **ismert** komponensének **oldatát változtatható úthosszú küvetában a referenciágra** kell helyezni, majd az úthosszt addig kell változtatni, míg az **ismert komponens spektruma „maradék nélkül”** kivonható a mérőágba helyezett elegy spektrumából. Az eljárást alkalmazva az elegy összetevői azonosíthatóak. Nem alkalmazható azonban a módszer akkor, ha az elegy komponensei között erős intermolekuláris kölcsönhatások alakulnak ki, mert ebben az esetben az adott komponensnek az elegybeli, illetve a referenciában lévő tiszta oldatbeli spektrumai eltérnek.

A rezgés frekvenciája és ezáltal hullámszáma (3.3.1. fejezet) két paramétertől függ:

- egyrészt a rezgés erőállandójától,
- másrészt a redukált tömegtől.

Az ujjlenyomat-tartományból azok a rezgések tudnak a $4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ tartományba emelkedni, melyeknél

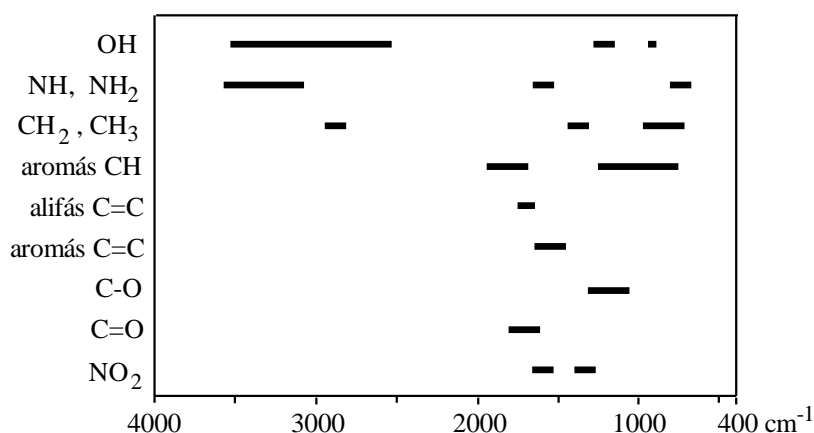
- vagy az erőállandó jóval nagyobb (például kettős és hármas kötések),
- vagy a redukált tömeg jóval kisebb, mint más rezgések esetében.

Ez utóbbi feltétel a redukált tömeg definíciója alapján akkor teljesül, ha a rezgésben részt vevő atomok tömege jelentősen eltér (például XH, X: C, O, N). Mivel a $4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ tartományban viszonylag kevés rezgési sáv jelenik meg, ezért az itt megjelenő sávok hullámszámértékeiből következtetni lehet a mintában található funkciócsoportokra.

A **sáv helyét** a spektrumban kis mértékben a funkciócsoporthoz **kapcsolódó atomok és atomcsoportok is befolyásolják**, így például a karbonilcsoport vegyértékrezgése ($\nu_{\text{C=O}}$)

- a difenil-ketonban 1665 cm^{-1} ,
- acetonban 1720 cm^{-1} ,
- míg ecetsavkloridban 1800 cm^{-1} körül jelenik meg az infravörös spektrumban.

Önmagában az infravörös spektrumból **csak viszonylag kis molekulák szerkezetét lehet meghatározni**, a nagyméretű molekulák (pl. gyógyszerek) szerkezetére az infravörös spektrum csak részinformációt ad. Ezen vegyületek teljes szerkezetét csak több módszer – IR, magmágneses rezonancia spektroszkópia (NMR) és tömegspektroszkópia (MS) – együttes alkalmazásával lehet meghatározni. Az alábbi diagram néhány csoport rezgéseinek jellemző hullámhossztartományait mutatja.



3.3.3.2. ábra. Néhány funkciós csoport jellemző elnyelési tartományai

3.3.4. Az infravörös spektrumok mennyiségi információtartalma

Az infravörös spektroszkópia mennyiségi analitikai alkalmazása a Bouguer–Lambert–Beer-törvényen alapul (1.1.4. fejezet), és az infravörös vizsgálatoknál is érvényesek a törvénytől való eltérések (3.1.3. fejezet). A csúsmagasság alapján számított **abszorbanciaértékek érzékenyek a spektrométer felbontására**, ezért inkább az **elnyelési sáv integrált abszorbanciája** (A_{int}) használandó, mely kevésbé függ a felbontástól és az alábbi összefüggéssel számolható:

$$A_{int} = \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \lg \frac{I_0}{I_{tr}} d\tilde{\nu} = \varepsilon \cdot l \cdot c.$$

A mennyiségi meghatározáshoz:

- **háttérként**, azaz a 100 %-os transzmittancia ($I_T = I_0$) meghatározására a **tiszta oldószer használandó**.
- Az oldatban történő meghatározásoknál nagyon fontos, hogy **végig ugyanazt az oldószert és küvetát kell használni**.
- Először egy olyan **abszorpciós sávot kell kiválasztani**, melyet nem zavarnak a minta egyéb összetevői,
- majd a **sáv talpán érintő egyenes behúzásával lehet kijelölni az alapvonalat** (baseline módszer).
- A mért abszorbanciaértékeket a standard koncentrációk függvényében ábrázolva megkapható a **kalibrációs görbe**.

Másik lehetőség a **differenciamódszer** alkalmazása. Ekkor olyan oldatsorozatot kell készíteni, melyben a meghatározandó komponens koncentrációja mintabeli értékénél kisebb értékeknél kezdődik és nagyobb koncentrációig terjed. Az ismeretlen oldatot a mérőágba, a standardoldatokat a referencia-ágba helyezve **abszorbanciakülönbség mérhető**. Az abszorbanciakülönbséget az standardoldatok koncentrációinak függvényében ábrázolva a mintabeli **ismeretlen koncentrációnak** az az érték felel meg, ahol az **abszorbanciakülönbség nulla**.

A **KBr-pasztillás technika** is felhasználható mennyiségi meghatározásra, azonban csak a belső standard módszer használható, mert az egyes pasztillák vastagsága és ezzel együtt az infravörös sugárzás optikai úthossza a mintákban eltér. Belső standardként 0,2% mennyiségben KSCN-t (2125 cm^{-1}) használnak.

Többkomponensű elegy alkotóinak koncentrációja az 3.1.4. fejezetben leírt módon határozható meg. Az infravörös spektrum meglehetősen sávdús volta miatt egymás mellett megbízhatóan 3–4 komponens mérhető.

Az infravörös spektroszkópia egyes esetekben **nyomelemzésre is alkalmas**, elsősorban akkor, ha a kis mennyiségben jelenlevő komponensnek a spektrum „üres” tartományában nagy intenzitású sávja van.

A főkomponensek meghatározásának pontossága általában 1–2%, de ennél kb. egy nagyságrenddel jobb, illetve rosszabb eredmények is előfordulnak a vizsgált sáv intenzitásától, más sávokkal történő átlapolásának mértékétől, az egymás melletti komponensek számától és még számos egyéb körülménytől függően.

3.3.5. *Az infravörös spektrumok gyakorlati alkalmazásának lehetőségei*

Az infravörös spektroszkópiát alkalmazzák **légszennyezés mérésére**. Különböző szerves gőzök a levegőben **1 ppm mennyiségben is** detektálhatók az erre a célra kifejlesztett készülékekkel. A módszer használható teljes funkciós csoport analízisre, ekkor nem egy specifikus vegyület, hanem egy **vegyületcsalád mennyisége** az érdekes (pl. egy reakció oxidációs melléktermékei, műanyaggyártásnál funkciós csoportok aránya).

Az **infravörös spektrométer és mikroszkóp együttes alkalmazásával** a minta meghatározott pontjairól lehet spektrumot készíteni. A technikának többek között a **bűnüldözésben** van nagy jelentősége (pl. vércsepp vizsgálat egy szövetdarabon). Az infravörös spektrumok alapján következtethetünk a **biomolekulák másodlagos szerkezetére**. Egy fehérje α -hélix, β -, vagy γ -lap típusú másodlagos szerkezete különböző jellegű hidrogénkötések révén stabilizálódik, amely megnyilvánul a hidrogénkötés akceptorának, az amidcsoport rezgéseinek hullámszámában. Az átlapoló sávokat görbeillesztéssel felbontva a sávok integrált abszorbanciája alapján megállapítható, hogy egy adott fehérjemolekula %-osan hogyan tevődik össze az egyes másodlagos szerkezetekből.

Az infravörös spektroszkópia alkalmazható a **műanyag hulladékok újrahasznosításakor**. A polipropilén-, polietilén-, polietiléntereftalát- és polisztirolhulladékok a közeli infravörös tartományban felvett spektrum kemometriás kiértékelésével megkülönböztethetőek. A spektrumot azért a közeli infravörös tartományban veszik fel, mert a felhangok mérése érzéketlenebb az alaprezgéseknél, ennek következtében a sugárzás mélyebben hatol be az anyagba, így a felületi szennyeződések, a felragasztott címkék zavarása kiküszöbölhető.

Hasonló okokból szintén a közeli infravörös tartományban vizsgálják a már **becsomagolt mintákat** (például tabletták). Az **élelmiszervizsgálatok** során a gabonamagvak víz-, fehérje- és zsírtartalmát is a közeli infravörös tartományban felvett spektrumból határozzák meg.

A **közeli infravörös tartomány előnye az analitikai infravörös tartománnyal szemben**, hogy az előbbi esetén a jel az üvegszálaban messzebbre továbbítható, azaz a mérőfej és a jelfeldolgozó egység térben jobban elválasztható, és ez főleg ipari alkalmazásoknál jelentős.

3.3.6. *Raman-spektroszkópia*

A 3.1.2. fejezetben említésre került, hogy a mintára beeső fény a részecskéken szóródhat.

- Ha a **beeső és szórt fény hullámhossza** (λ_0 és λ_i) **megegyezik**, akkor az **ütközés rugalmas és Rayleigh-szóródásról van szó**,
- míg ha a beeső és szóródott fény hullámhossza **különbözik**, akkor az **ütközés rugalmatlan és Raman-szóródás** lép fel:
 - a foton hullámhossza lehet nagyobb (Stokes-átmenet),
 - vagy kisebb (anti-Stokes-átmenet).

A Stokes- és anti-Stokes-**sávok** a Rayleigh-sáv eltérő oldalain, a Rayleigh-sávra **szimmetrikusan** helyezkednek el.

- A **Stokes-átmenet** esetében a **foton ad át energiát a mintának**, ez az energia a minta forgási vagy rezgési szintjeinek gerjesztésére fordítódik,
- míg **anti-Stokes-átmenet** esetében a **foton kap energiát** a gerjesztett állapotban lévő molekulától.

A $\lambda_0 - \lambda_i$ különbség tehát megegyezik a vizsgált anyagra jellemző rezgések hullámhosszával, így a Raman-szórás spektrumának alapján tanulmányozhatóak a vizsgált anyag rezgései. A Raman-szórás

gyenge jelenség, a beeső fény 10^{-6} része szenved Rayleigh- és 10^{-10} része szenved Raman-szóródást. A **Stokes-sávok intenzitása nagyobb az anti-Stokes-sávokénál**, mert a szokásos mérési körülmények között a molekulák általában alapállapotban találhatók.

Bár az **infravörös és a Raman-spektroszkópia** egyaránt alkalmas a minta rezgési tulajdonságainak vizsgálatára, így a két technikával felvett spektrumok hasonlóak, de a spektrumokban jelentős különbségek is fellépnek, mert a két módszer nem teljesen ugyanazt az információt szolgáltatja. Emiatt a két módszer mint **egymást kiegészítő (komplementer) technikák** alkalmazhatóak a minta anyagának vizsgálatakor vagy szerkezetének meghatározása során.

- A különbség oka, hogy az **infravörös** spektrumban azok a sávok jelennek meg, amelyekhez rendelhető rezgés közben **megváltozik a molekula dipólusmomentumának valamelyik komponense** (lásd a [3.3.1. fejezetet](#)),
- addig a **Raman-sávok** megjelenésének feltétele az, hogy a **kötés polarizálhatósága változzon meg** a rezgés során. Ez a feltétel tulajdonképpen azt jelenti, hogy az elektronfelhő deformálhatóságának a rezgés eltérő fázisaiban különbözniük kell. A polarizálhatóságnak (α) tehát változnia kell az atommagok közti távolság (r) függvényében:

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_0) \cdot \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right),$$

ahol a r_0 az egyensúlyi magtávolság és

α_0 az egyensúlyi magtávolsághoz tartozó polarizáció.

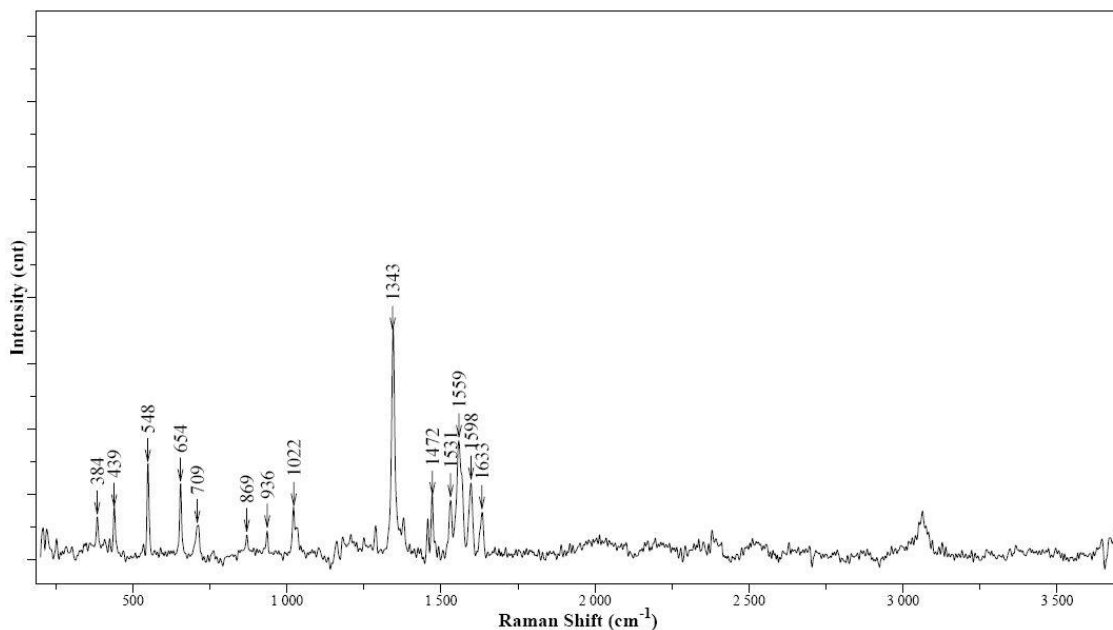
A kétféle mechanizmus következményeként egy adott kötés infravörös és Raman-aktivitása jelentősen eltérhet. Egyféle atomokat tartalmazó kétatomos molekulák (például N_2 , O_2) vegyértékrezgése során nem változik meg a dipólusmomentum, így infravörös spektroszkópiával nem mérhetőek. A kötés polarizálhatósága azonban a rezgés során változik, a polarizálhatóság akkor a legnagyobb, illetve a legkisebb, ha a két atom közötti távolság a legnagyobb, illetve a legkisebb. A [3.3.1. fejezetben](#) leírtak szerint a CO_2 molekula szimmetrikus vegyértékrezgésének nincs sávja az infravörös spektrumban, míg a Raman-spektrumban igen. A polarizálhatóság változik a rezgés során, az elektronfelhő torzítása könnyebb lesz, amikor a két kötés egyszerre megnyúlik.

Az **aszimmetrikus vegyértékrezgés** IR-aktív, de nem Raman-aktív, mert amikor a polarizálhatóság az egyik kötés esetében nő (nyúlás), akkor a másik kötés esetében csökken (összenyomódás). Szimmetriacentrummal (inverziós centrummal) rendelkező molekuláknál egy rezgéshez tartozó sáv vagy az infravörös vagy a Raman-spektrumban jelenik meg.

Természetesen rengeteg olyan molekula van, melyekben egy adott rezgés sávja mind az infravörös, mind a Raman-spektrumban megjelenik.

A különböző λ_0 hullámhosszúságú fényvel végzett mérések összehasonlíthatósága, valamint az infravörös és **Raman-spektrumok összehasonlíthatósága** miatt a Raman-spektrumokat nem az abszolút hullámszámskálán, hanem a gerjesztő vonaltól mint origótól mért **ún. Raman-eltolódás** skálán szokták ábrázolni (azaz a $\lambda_0 - \lambda_i$ különbségnek megfelelő hullámszámoknál található a sáv a spektrumban). A **Raman-sávok alatti terület a besugárzó fényt szóró molekulák számával, ezáltal mintabeli koncentrációjukkal arányos**.

Az [3.3.6.1. ábra](#) az akridon Raman-spektrumát mutatja. Összehasonlítva a vegyület [3.3.3. fejezetben](#) lévő infravörös spektrumával, eltekintve az eltérő ábrázolási módoktól, jól láthatóak az azonosságok és az eltérések (például az $1343-1346 \text{ cm}^{-1}$ hullámszámnál megjelenő vonalak és jelerősségük).



3.3.6.1. ábra. Az akridon Raman-spektruma

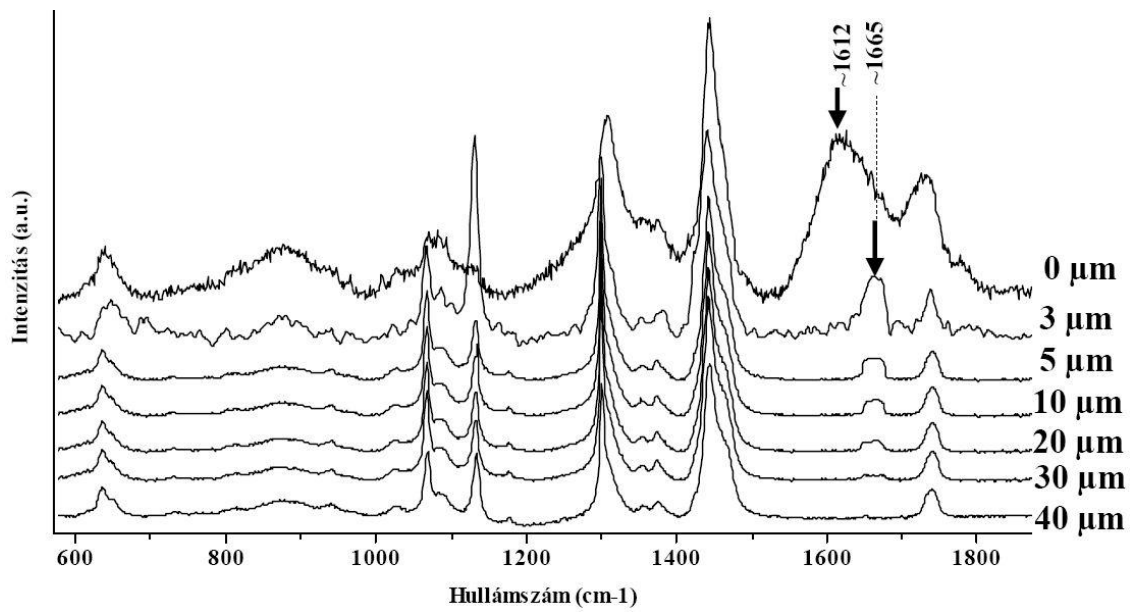
(Horiba–Jobin Yvon Labram spektrométer: $\lambda_0 = 532$ nm, Nd:YAG-szilárdtestlézer, CCD-detektor, expozíciós idő: 2 sec, akkumulációk száma: 20, alapvonal korrigált spektrum)

Az 1.2.1. és 1.2.4. fejezetben említésre került, hogy a Raman-szórás intenzitása a hullámhossz negyedik hatványával fordítottan arányos, ezért célszerűnek tűnik kisebb hullámhosszakon mérni. Azonban az UV-VIS tartományban történő besugárzás a besugárzó fény abszorpciójához, esetleg a minta fotodisszociációjához, fluoreszcenciájához, illetve a bevitt lézerteljesítmény miatti termikus degradációjához vezethet. Ezekben az esetekben fényforrásként a közeli infravörös tartományban működő lézert, valamint a jobb jel/zaj viszony miatt Fourier-transzformációs készüléket kell alkalmazni.

A Raman-spektroszkópia **előnye** az infravörös spektroszkópiával szemben, hogy:

- kvarc- vagy üvegmintatartók is alkalmazhatóak és vizes oldatok is mérhetőek.
- Továbbá a lézersugár kis mintafelületre fókuszálható (Raman-mikroszkóp), így
 - egyrészt csekély mennyiségű minták,
 - másrészt a mintafelület eltérő pontjai (akár $0,5 \mu\text{m} \times 0,5 \mu\text{m}$) is vizsgálhatóak, ami lehetővé teszi egy adott felület „feltérképezését” is.
- Továbbá mélységi felbontással a felület alatti részről $50 \mu\text{m}$ mélységig is készíthetőek Raman-felvételek, melyek lehetővé teszik a vizsgált minta koncentrációjának háromdimenziós ábrázolását, vagy a felületet érő külső hatások mintára gyakorolt hatásainak a vizsgálatát.

Az 3.3.6.2. ábra a 15 perces 290°C -on végzett hőkezelésnek alávetett poli(etilén-vinilacetát) kopolimer felületen és a felület alatti rétegekben a felülettől mért távolság függvényében felvett Raman-spektrumai láthatóak. Az ábrán a **termikus degradációra utaló intenzívebb sávok** jelölve vannak (\downarrow). A spektrumokból jól látható, hogy a termikus degradációban érintett réteg vastagsága kisebb, mint $40 \mu\text{m}$, melynek oka, hogy minta külső rétegének felmelegedése gyorsabb és ennek következtében hosszabb ideig van kitéve az adott véghőmérsékletnek, mint a mélyebben fekvő rétegek.



3.3.6.2. ábra. A poli(etilén-vinilacetát) kopolimer felületen és a felület alatti rétegekben a felülettől mért távolság függvényében felvett Raman-spektrumai

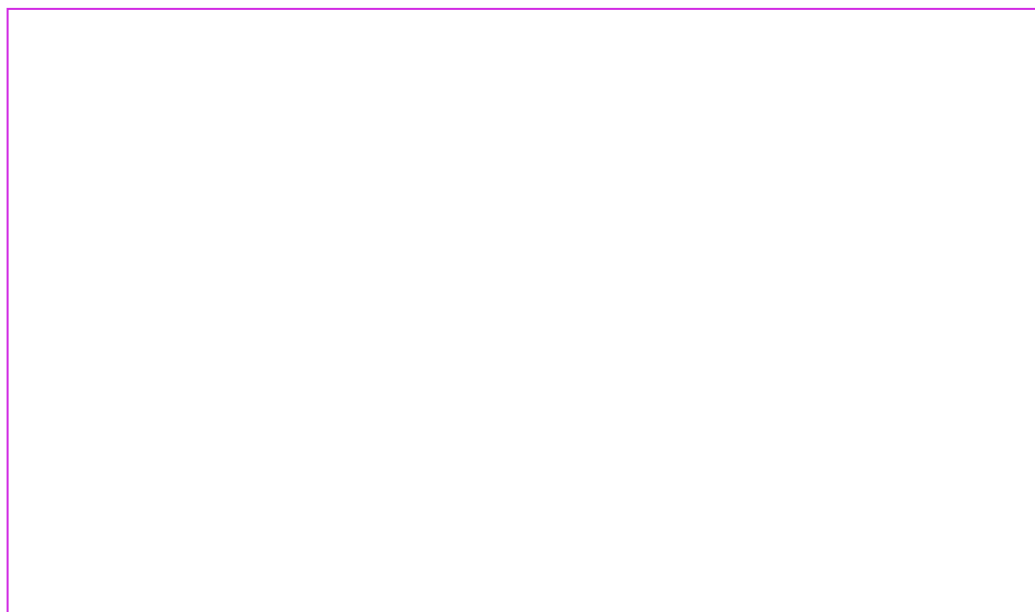
4. TÖMEGSPEKTROMETRIA

4.1. BEVEZETŐ

Amíg az előző fejezetekben ismertetett optikai molekuláspektroszkópai módszereknél (a kemilumineszcencia és a biolumineszcencia kivételével) általában figyelni kell arra, hogy a minta minősége változatlan maradjon a vizsgálat során, addig a tömegspektrometriában a mintát roncsolják, gázhalmazállapotú pozitív vagy negatív töltésű részecskéket hoznak létre és ezeket a részecskéket választják el eltérő energiájuk, impulzusmomentumuk vagy sebességük alapján elektromos és/vagy mágneses mező segítségével.

Először 1910-ben J. J. Thompson (az 1906. évi fizikai Nobel-díjas) tudta egy elem két izotópját (^{20}Ne és ^{22}Ne) megkülönböztetni, míg F. W. Aston 1922-ben kapott kémiai Nobel-díjat 212 a természetben előforduló izotóp kimutatásáért. Az első szerves vegyület tömegspektrumát 1935-ben Taylor vette fel. A szerves kémiai alkalmazás és a tömegspektrumot eredményező folyamatok tisztázásával fontos információk nyertek a molekulák szerkezetéről. Később az analitikai teljesítmény növelése céljából a tömegspektrométereket más analitikai készülékekkel építették össze, így jöttek létre az ún. kapcsolt (hyphenated) technikák: a gáz- vagy folyadékkromatográffal (GC-MS, LC-MS), a termogravimetriás készülékkel (TG-MS), az atomspektroszkópiában leírt induktív csatolású plazmaégővel (ICP-MS), valamint másik tömegspektrométerrel (tandem tömegspektrometria MS-MS, MS-MS-MS) összeépített berendezések. Egy HS-GC-MS-készülék működését mutatja be az alábbi videó.

VIDEÓ



4.1.1. videó: HS-GC-MS-mérés

4.1.1. A tömegspektrumok jellemzése

A tömegspektrum

- abcisszáján a töltésegységre eső tömeg (m/z , z a részecske töltésszáma),
- ordinátáján a mért ionáramok intenzitása van feltüntetve (4.1.3.1. ábra és 4.1.3.2. ábra).

Molekulaion: a spektrumban megjelenő jelek közül az az egységnyi töltésű ion, amely a vizsgált molekulából egy elektron leadásával vagy felvételével keletkezik.

- A molekulaion tömege egyenlő a minta nem ionizált molekulájának tömegével (amennyiben az elektron tömegét az atommag tömegéhez képest elhanyagoljuk),

- jele rendszerint a legnagyobb m/z értéknél jelentkezik a spektrumban, de ha a molekula könnyen hasadó kötést tartalmaz, a molekulaion-csúcs kis intenzitású vagy gyakorlatilag észlelhetetlen is lehet.

Töredékionok (fragmensek): a molekulaion szétesésekor (fragmentáció) keletkeznek, ehhez tartozó jelek is megjelennek tömegspektrumban.

- A fragmentáció történhet a kötések hasadásával vagy a molekulán belüli átrendeződés következtében.

Báziscsúcs: a tömegspektrum legintenzívebb jele, mely egyaránt lehet molekulaion vagy fragmension, intenzitását pedig 100%-nak definiálják.

4.1.2. A tömegspektrométerek fontosabb teljesítményjellemzői

Tömegtartomány

Az atomi tömegegységekben [amu] (atomic mass unit, más néven *dalton*, a ^{12}C tömegének tizenketted része, $1 \text{ dalton} = 1 \text{ g/Avogadro-szám} = 1 / (6,02214199 \times 10^{23}) \text{ g} = 1,66053873 \times 10^{-24} \text{ g}$) **megadott tömegtartomány**, amelyben a molekulaion és a fragmensionok tömegét a készülék adott felbontóképességgel meg tudja különböztetni, például 10–1500 dalton.

Ugyanakkor a mérési tartományon kívül eső minta is vizsgálható, ha a mintát nem egyszeresen, hanem többszörösen ionizálják.

Felbontóképesség ($R [-]$)

Adott tömegspektrumban még megkülönböztethető, két egymás mellett lévő csúcs esetében a felbontóképesség a következőképpen definiálható:

$$R = \frac{m}{m_2 - m_1},$$

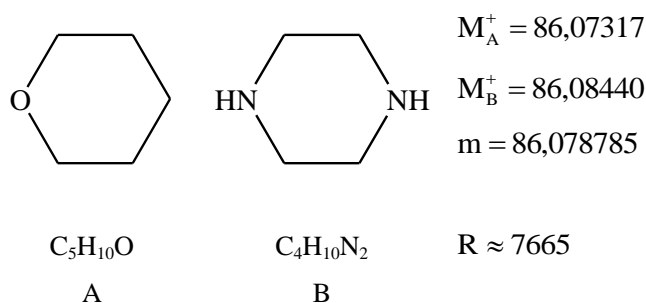
ahol m a még éppen megkülönböztethető (m_2 és m_1 tömegű) két csúcshoz tartozó ionok tömegszámainak középértéke.

Két egyenlő magasságú csúcs még megkülönböztethető, ha a köztük lévő völgy magassága kisebb a csúcs magasságának 10%-nál. Például, ha egy 100 dalton tömegű szerves molekula ($m = 100,00$) tömege mellett a 99,99 vagy a 100,01 még mérhető, akkor a felbontóképesség $R \approx 10^4$.

Készülék típusa	Felbontóképessége	Vizsgálati célja	Kitüntetett tulajdonsága
„Kis felbontású” tömegspektrométer	$R < 10^4$	elsősorban analitikai	a nagy érzékenység, kis kimutatási határ
„Nagy felbontású” tömegspektrométer	$R > 10^4$	elsősorban szerkezetvizsgálat	a nagy felbontóképesség

4.1.2.1. táblázat. Tömegspektrométerek csoportosítása felbontóképesség alapján

A tetrahidropirán és a piperazin molekulaionjai nagyon közeli m/z értékeknél jelennek meg a tömegspektrumban, de a molekulaion tömegének pontos megméréssel megkülönböztethetőek. A **pontos molekulatömeg meghatározás alapján lehetővé válik az elemi összetétel meghatározása**, mely nagyon fontos a minta minőségi analízisének szempontjából.



4.1.2.1. ábra. A tetrahidropirán (A) és a piperazin (B) szerkezete és az elválasztásukhoz szükséges felbontás mértéke

Érzékenység, kimutatási határ

Az érzékenységet konkrét anyagra kell megadni.

Analitikai készülékeknél a kimutatási határ 10^{-15} g (femtogramm).

Tömegmérési pontosság

Szerkezetvizsgálati készülékeknél a megbízható tömegmérés legkisebb értékét jelzi ppm-ben. (Pl. az ± 1 ppm azt jelenti, hogy $m = 100,0000$ dalton esetében a negyedik tizedes jegy még $\pm 0,0001$ dalton pontossággal mérhető).

Pásztázási idő, pásztázási sebesség

Spektrumfelvételi idő, általában 0,1–1 s. Ez a paraméter különösen fontos csatolt módszerek esetén (HPLC-MS, GC-MS, stb.), amikor a tömegspektrométerbe érkező elegy összetétele időben változik.

Ionátviteli hatások

Azt fejezi ki, hogy az ionforrásban keletkező ionok hányad része jut el a detektorba. Analitikai készülékeknél 70–80 % is lehet, míg nagy felbontású készülékeknél 40–50 %.

4.1.3. Az tömegspektrometria minőségi és mennyiségi információtartalma

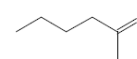
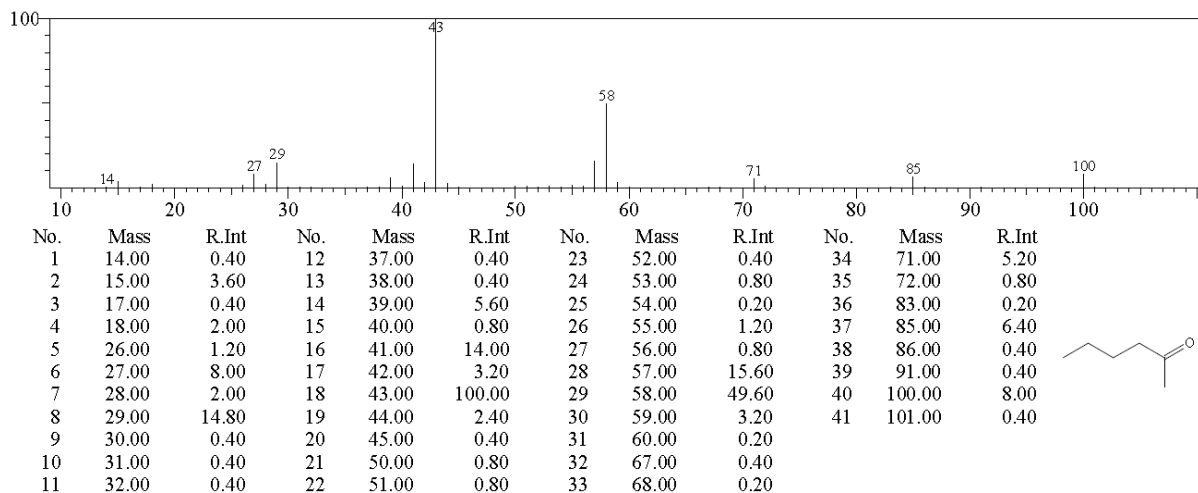
A tömegspektrometria az infravörös és NMR-spektroszkópiával együtt a legfontosabb szerkezetvizsgálati módszerek közé tartozik.

A minőségi információ alapja a tömegspektrum

Az enantiomerek kivételével nincs két olyan molekula, amelyeknek a tömegspektruma, pontosabban a legintenzívebb ion jelének intenzitására normált¹, ún. karakterisztikus tömegspektruma azonos lenne. Ennek oka:

- az eltérő elemösszetételből adódó különböző molekulatömeg (4.1.2. fejezet), illetve
- a különböző fragmentációs mechanizmusok.

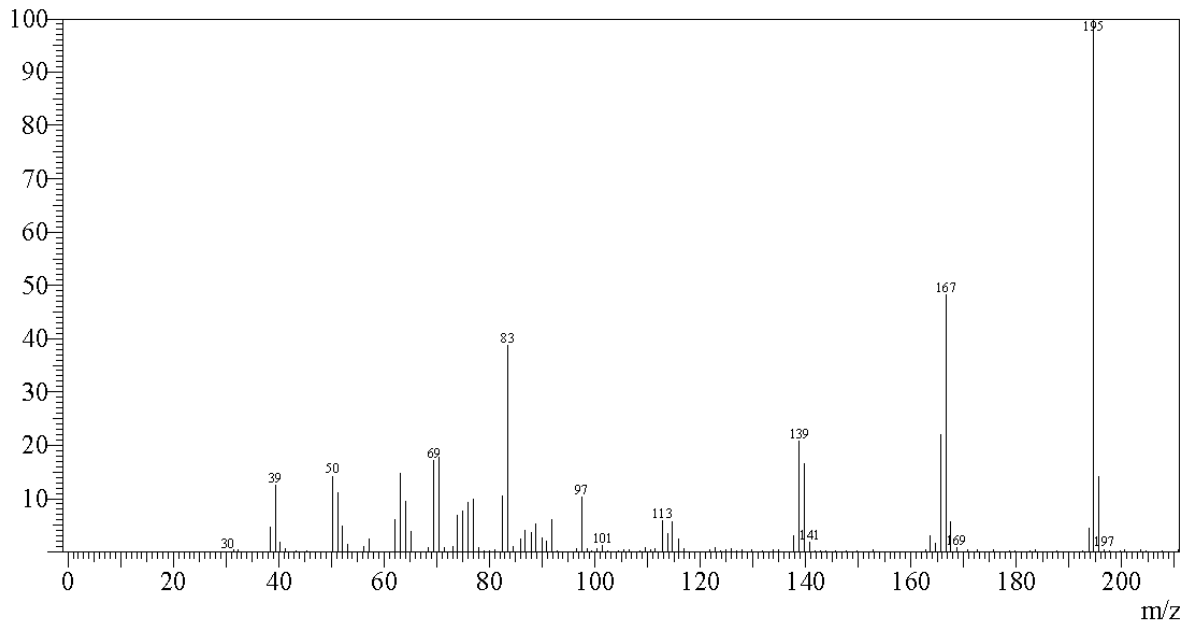
A 2-hexanon (4.1.3.1. ábra) és az akridon tömegspektruma (4.1.3.2. ábra) jól láthatóan eltér egymástól.



4.1.3.1. ábra. 2-hexanon tömegspektruma és az egyes m/z értékekhez tartozó jelek intenzitása a báziscsúchhoz képest.

(A National Institute of Standards adatbázisból)

¹ A legnagyobb intenzitású csúcs (báziscsúcs) jelét 100%-nak tekintjük, és a többi csúcsot ehhez képest relatíve adjuk meg.

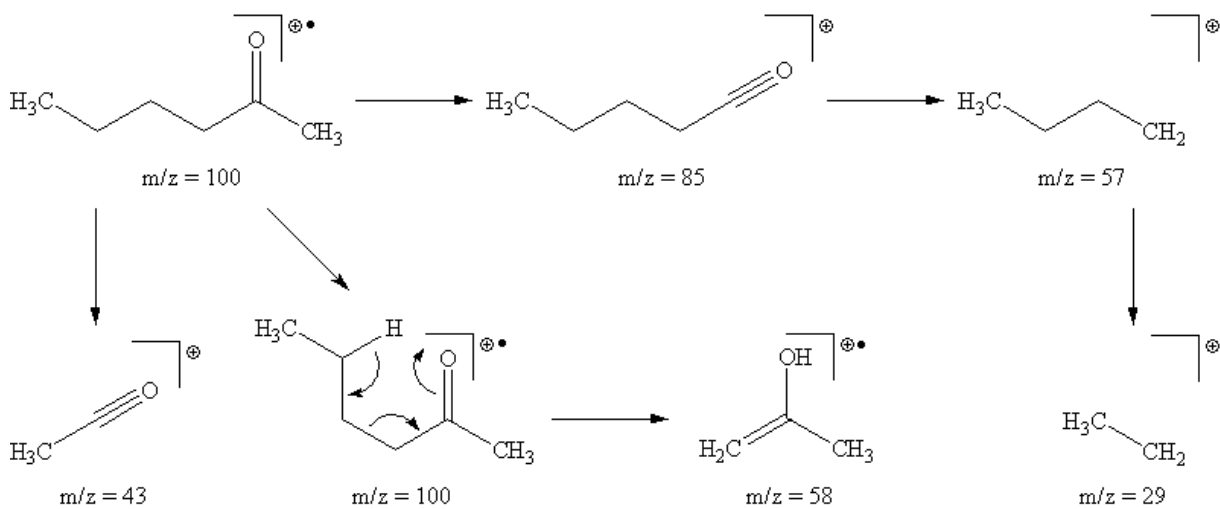


4.1.3.2. ábra. Az akridon tömegspektruma.
Shimadzu QP-2010 GC-MS-készülék, kvadrupol analizátor

Látható, hogy amíg a 2-hexanon spektrumában egy fragmentum jele báziscsúcs, addig az akridon tömegspektrumában a molekulaionhoz tartozó jel az. Ez egyértelműen az akridon aromás jellegének köszönhető, mert a pozitív töltés eloszlik az aromás rendszerben, ezért a molekulaion élettartama megnő és a tömegspektrometriás mérés ideje alatt kevésbé hajlamos fragmentálódni.

A szerves vegyületek **minőségi elemzése történhet a mért spektrum** és a spektrumadatbázisokban (könyvtárak) lévő, **már ismert spektrumok összehasonlításával** és egyezés esetén az azonosság deklarációjával, vagy a tömegspektrumok megfejtésével, melyhez azonban szükséges a fragmentálódási reakciótípusok ismerete.

Bár a fragmentációs folyamatok részletesebb ismertetésétől eltekintünk, mert az meghaladja a jegyzet kereteit, de az 4.1.3.3. ábrán bemutatjuk a 2-hexanon fragmentációs mechanizmusát, mellyel a molekula tömegspektrumában fellépő jelek magyarázhatóak.



4.1.3.3. ábra. A 2-hexanon jellemző fragmentációs reakciói

Mennyiségi meghatározás alapja a tömegspektrum jeleinek intenzitása

A jel magassága egyenesen arányos a jelet létrehozó komponens koncentrációjával. Az ismeretlen koncentrációjú minta jelének és a különböző koncentrációjú **standardminták jeleinek összehasonlításával** a minta koncentrációja meghatározható.

Izotóparányok meghatározása

Ez a tömegspektrometria fontos területe. Stabil izotópok jelzésével kémiai és biokémiai folyamatok vizsgálhatóak.

- $A \text{ } ^{238}\text{U} \rightarrow ^{206}\text{Pb}$, $^{40}\text{K} \rightarrow ^{40}\text{Ar}$ és $^{87}\text{Rb} \rightarrow ^{87}\text{Sr}$ radioaktív bomlások felezési idejének ismeretében kőzetek kora határozható meg.
- Az izotóparányok mérésével az élelmiszerhamisítások is felderíthetőek,
- például $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ arány mérésével a borok cukrozása bizonyítható.

A módszer alkalmazásai

fizikai kémiai:

- ionizációs energia,
- kötés disszociációs energiájának,
- képződéshő és
- elektronaffinitás meghatározása.

A tömegspektrometria alkalmazható felületi szennyeződések, adszorpciós rétegek hely szerinti eloszlásának felderítésére is.

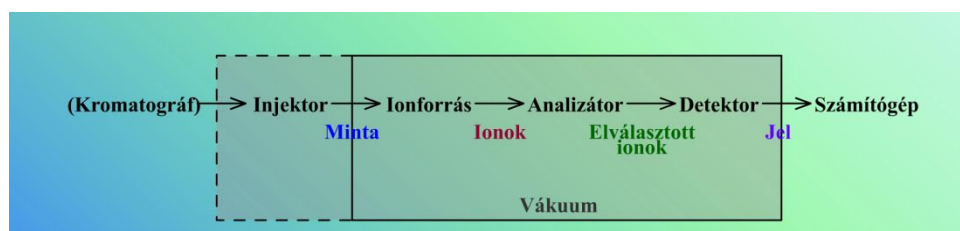
A GC-MS- és LC-MS-technikákkal lehetséges összetett szerves rendszerek minőségi és mennyiségi elemzése a gyógyszeranalízis, környezetvédelmi analitika, szermaradványok analitikájának területén.

4.2. A TÖMEGSPEKTROMÉTEREK RÉSZEGYSÉGEI

4.2.1. Tömegspektrométerek felépítése

Bár többféle elven működő készülékrendszereket fejlesztettek ki, de a legfontosabb készülékelemek és azok funkciói megegyeznek. Egy tömegspektrométernek tartalmaznia kell:

- mintabeviteli rendszert,
- ionforrást és iongyorsítót,
- analizátort,
- detektort,
- vákuumrendszert,
- számítógépet és
- az elektromos energiát biztosító egységeket.



4.2.1.1. ábra. A tömegspektrométer blokkdiagramja.
Az injektor nem mindig van vákuum alatt

A 4.2.2. fejezet alapján a minta többféleképpen vihető be a spektrométerbe, a 4.2.3. fejezetben felsorolt ionizációs technikáknál eltérő módokon hozzák létre az ionokat és más-más típusú minták ionizációjára alkalmazzák azokat, a 4.2.4. fejezetben leírt analizátorok működési elve is különbözik, ezért a tömegspektroszkópia előnyei akkor használhatóak ki, ha a minta analízise során többféle mintabeviteli és ionizációs módszer, valamint különböző analizátorok alkalmazására van lehetőség.

4.2.2. Mintabevitel

A tömegspektrométerbe a minta mind közvetetten egy másik analitikai készülékből (például GC-MS, LC-MS, ICP-MS), mind közvetlenül is bevihető.

Közvetlenül:

- legegyszerűbben gázok juttathatóak be, felhasználva a légköri és mintabeviteli egységben lévő nyomáskülönbségét.
- Folyadékok és szilárd minták is betáplálhatóak **gázként**, amennyiben gőznyomásuk szobahőmérsékleten jelentős.
- Nehezen párologó és viszkózus, de hőre nem érzékeny folyadékok gőznyomása magasabb, 300–350 °C hőmérséklet és vákuum alkalmazásával megnövelhető annyira (10^{-3} – 10^{-2} Pa), hogy tömegspektrometriásan mérhetőek legyenek.

Folyadékokat szeptumon keresztül mikrofecskendő alkalmazásával lehet beinjektálni (0,1–1 µl), a minta a mintabeviteli egységben alkalmazott vákuum (1–10 Pa) és a 200–400 °C hőmérséklet hatására elpárologtatható. Folyadékok párologása során hatalmas térfogatnövekedéssel kell számolni, a keletkező gáznak csak egy részét lehet az ionforrásba bejuttatni. A gáz a mintabeviteli egységből egy 10–50 µm átmérőjű nyíláson jut be a 10^{-4} – 10^{-1} Pa nyomású ionforrásba.

A nem illékony vagy hőre érzékeny mintákat közvetlenül az ionizációs kamrába juttatják be, majd a vákuum létrehozása után a mintából speciális, általában deszorpciós módszerekkel állítanak elő ionokat.

4.2.3. Ionforrás és iongyorsító

Az ionforrásban, a **gerjesztő energia hatására** játszódnak le döntően azok az ionkémiai folyamatok, amelyek eredményeként kialakul a tömegspektrum. Az ionforrások fő feladata:

- az ionok előállítása a vizsgálandó mintából, valamint
- az ionnyaláb előállítása és gyorsítása, bejuttatása az analizátorba.

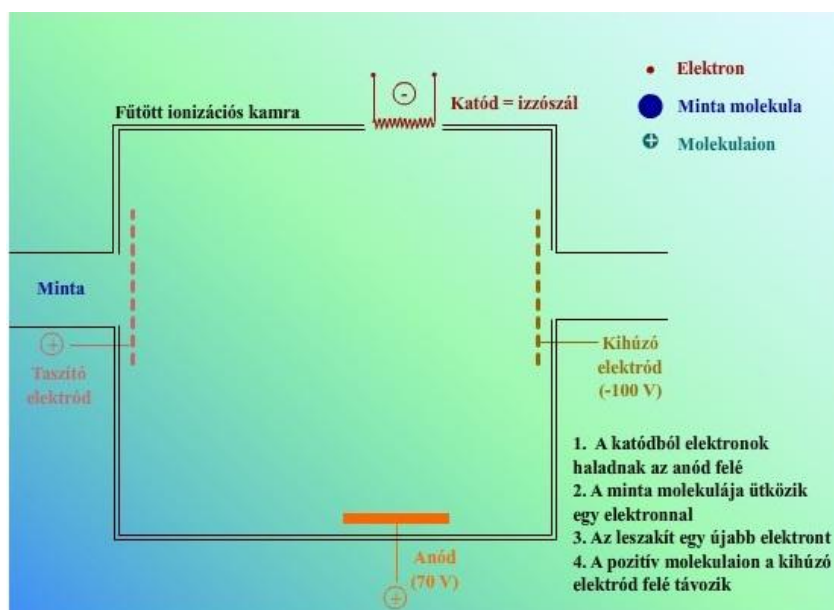
Az ionizáció különböző energiafélésekkel oldható meg a vizsgált mintától és a vizsgálat céljától függően.

	Az ionforrás magyar megnevezése	Az ionforrás rövidítése, illetve angol megnevezése
Szervetlen anyagok	szikraionforrás	SS (spark source)
	lézer ionforrás	LI (laser ionization)
	termoionizációs ionforrás	TI (thermal ionization)
	induktív csatolású plazma	ICP (inductively coupled plasma)
Szerves anyagok	elektron ionizációs, más néven elektronütközéses ionforrás	EI (electron ionization, electron impact)
	elektroporlasztásos ionizáció	ESI (electrospray ionization)
	termoporlasztásos ionizáció	TS (thermospray)
	kémiai ionizációs ionforrás	CI (chemical ionization)
	gyorsatombombázásos ionforrás	FAB (fast atom bombardment)
	térionizációs ionforrás	FI (field ionization)
	térdeszorpciós ionforrás	FD (field desorption)
	termodeszorpciós ionforrás	TD (thermodesorption)
	közvetítő mátrixot felhasználó lézer deszorpciós ionforrás	MALDI (matrix assisted laser desorption ionization)
	atmoszférikus nyomáson történő ionizáció / kémiai ionizáció	API/APCI (atmospheric pressure ionization / chemical ionization)

4.2.3.1. táblázat. A fontosabb ionforrások csoportosítása a vizsgálható anyag szerint

Elektron ionizáció (EI)

Az elektronütközésen alapuló ionizációs módszer a legrégebbi, de ma is az egyik leggyakrabban alkalmazott ionizációs technika.



4.2.3.1. mozgó ábra. Az elektron ionizációs ionforrás felépítése

Az ionizációs kamra 150 °C hőmérsékleten (a minta kondenzációját elkerülendő) és 10^{-4} – 10^{-3} Pa nyomáson működik.

Az elektronok:

- az izzószálból, katódból (például volfrám, rénum) lépnek ki.
 - Az izzószál hőmérsékletétől függ az elektronok száma.
- Felgyorsulnak a katód és az anód közti potenciálkülönbség hatására.
 - A potenciálkülönbség (5–100 V) nagyságától függ az elektronok energiája.

A gázhalmazállapotú **mintát**

- az elektronáramlásra merőlegesen vezetik be az ionforrásba.
- A molekula az elektronnal történő **ütközés** során felveszi annak mozgási energiáját és
- ez a felvett energia fordítódik a **molekula ionizációjára**.

Megjelenési energia: az a legalacsonyabb energia, amely egy adott ion keletkezéséhez szükséges.

Megjelenési potenciál: a megjelenési energiához szükséges katód és az anód közti potenciálkülönbség.

- A leggyakrabban alkalmazott potenciálkülönbség 70 V, ekkor az elektronok 70 eV energiára tesznek szert.

A minta anyagi minőségétől függően az ionok képződéséhez 6–14 eV energia szükséges. $1 \text{ eV} = 1,602 \times 10^{-19} \text{ J}$, azaz ha egy elektron energiája 10 eV, akkor 1 mol elektron energiája mintegy 965 kJ, ami jóval meghaladja az 1.1.3. fejezetben a $\lambda = 500 \text{ nm}$ hullámhosszúságú fényel történő elektronerjesztésre számolt energiát (239,5 kJ). Az elektronok energiáját növelve a vizsgált molekulák egyre jobban fragmentálódnak, ennek megfelelően a minta tömegspektruma is változik. 70 eV elektronenergia felett a minta tömegspektrumának jellege már lényegesen nem függ az ütköző elektronok energiájától.

Azokat az elektronokat, melyek nem ütköznek mintamolekulával, az anód fogja be, míg az ütközés során keletkező pozitív töltésű ionokat az ún. taszító elektród (repeller) kitaszítja, illetve ezzel egyidejűleg egy kis negatív töltésű (100 V) elektród kihúzza az ionizációs térből.

Az ionokat ezután egy gyorsító elektromos tér nagyfeszültség (4–10 kV) hatására felgyorsítja és ezután jutnak be az analizátorba. Az analizátorba belépő ionok energiája és sebessége kiszámítható:

$$z_i \cdot e \cdot V = \frac{m_i \cdot v_i^2}{2},$$

ahol m_i , v_i és z_i az i . ion tömege, sebessége illetve töltésszáma, e az elektron töltése, V a gyorsítófeszültség.

Az azonos m/z értékű ionok az ionforrásban nem pontosan azonos helyen képződnek, az analizátor bemeneti nyílásától távolabb képződött ionok nagyobb potenciálkülönbségen haladnak át, a sebességük és ezáltal a kinetikus energiájuk kissé nagyobb lesz. Ha a két m/z értékű ion azonos helyen, de eltérő kinetikus energiával (ezáltal eltérő sebességgel is) képződik, akkor a sebességük az iongyorsítás után szintén különbözni fog.

Az elektron ionizáció **előnye**, hogy könnyen reprodukálható spektrumot eredményez, a legtöbb analizátorral és a gázkromatográfias technikákkal könnyen kombinálható. **Hátránya**, hogy csak viszonylag illékony és hőstabil vegyületek esetében alkalmazható, ennek következtében 1500 dalton molekulatömegig használható. Az ionizáció után a molekulaion gyakran elbomlik és a tömegspektrumban nem detektálható, melyen sokszor az ionizáló elektronok energiájának csökkentése sem segít. Ekkor kíméletesebb ionizációs módszert, például kémiai ionizációt kell választani.

Kémiai ionizáció (CI)

A kémiai ionizáció során az ionforrás a vizsgálandó mintához képest nagy feleslegben (10^3 – 10^4) reagens gázt tartalmaz (emiat az ionforrásban nagyobb nyomás, 10–100 Pa van), ezért az Elektron ionizáció (EI) című fejezetben ismertetett elektronnyaláb elsősorban a reagens gázt ionizálja. A minta molekuláit a reagens gáz ionjai ionizálják.

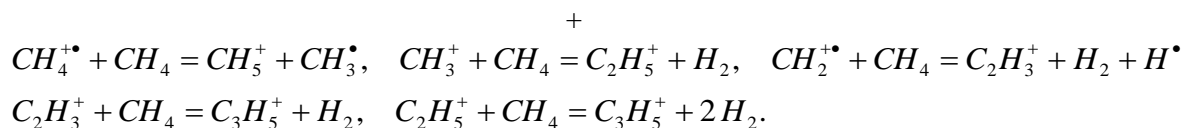
A reagens gáz ionjai az energiájukat csak fokozatosan, többszöri ütközés után veszítik el, a **fragmentáció kisebb**, így a **kémiai ionizáció kíméletesebb** az elektron ionizációnál. Kémiai ionizációval **mind pozitív, mind negatív töltésű ionok előállíthatóak**.

Az alkalmazandó reagens gáz függ a vizsgálandó minta minőségétől. Pozitív kémiai ionizáció során általában metánt, izobutánt és ammóniát alkalmaznak. Az ionizációs folyamat több lépésben megy végbe.

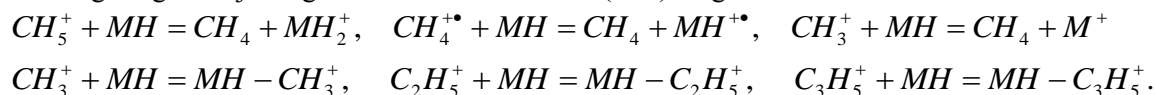
1. A primer folyamatban a reagens gáz ionizálódik, a metán esetében:



2. A keletkezett ionok a reagens gáz további molekuláival reagálnak (szekunder reakció):



3. A reagens gáz ionjai végül a minta molekuláival (MH) reagálnak:



A reakciók alapján a minta molekulái

- protonálódhatnak $[\text{M}+1]^+$ (M: molekulatömeg),
- elektront (M^+ , töltéscsere) veszíthetnek, vagy
- hidridiont $[\text{M}-1]^+$ veszíthetnek,

- valamint a reagens gáz ionjaival adduktot képezhetnek ($[M+15]^+$, $[M+29]^+$, $[M+41]^+$).

Így a spektrumban kevés, a molekulaion tömegszámának környezetében fellépő és jól értékelhető jel található.

A metánt és az izobutánt elsősorban alacsony protonaffinitású vegyületek esetében (például szénhidrogének) alkalmazzák, melyeknél elsősorban az $[M+1]^+$ -ionokat lehet észlelni, míg az ammónia poláros vegyületek vizsgálatánál hasznos: erősen bázikus aminoknál $[M+1]^+$ -ionok, oxigéntartalmú vegyületeknél $[M+18]^+$ -ionok (ammóniumion-addukt) jelennek meg.

Az elektron ionizációs és a kémiai ionizációs ionforrás felépítése gyakorlatilag megegyezik, csupán nagyobb kapacitású vákuumszivattyú és az ionokat az analizátorba engedő rés szélességének a csökkentése szükséges. A modern készülékek lehetővé teszik EI- és CI-spektrumok közvetlenül egymás után történő felvételét.

A kémiai ionizációt gyakran alkalmazzák molekulatömeg meghatározására, illetve elegyek mennyiségi analizisére. A technika hátránya, hogy a kapott spektrumok jelentősen függenek az ionizáció körülményeitől, a tömegspektrométer állapotától, emiatt nehezen reprodukálhatóak.

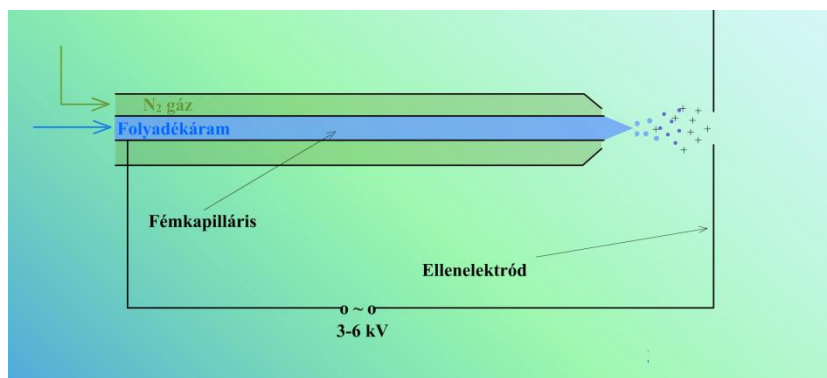
Elektroporlasztásos ionizáció (ESI)

Az elektroporlasztásos ionizáció **atmoszférikus nyomáson** működő technika, a **vizsgálandó anyagot folyadékárammal** (5–300 $\mu\text{l}/\text{perc}$) juttatják be az ionforrásba. A minta oldata egy 0,1–0,15 mm belső átmérőjű fémkapillárison halad át. A kapilláris és a kapilláris végétől 0,5–2 cm távolságra lévő ellenelektrod között 3–6 kV feszültségkülönbség van, mely a két elektród között 10^6 V/m nagyságú **elektrosztatikus teret** hoz létre.

A kapilláris falával ellentétes előjelű töltések egy része a kapilláris falához vándorol, ahol töltését elveszti, míg a kapilláris falával azonos előjelű töltések a kapilláris végén lévő folyadék felszínén halmozódnak fel.

Az elektrosztatikus tér hatására a **folyadék kúpszerűen kicsúcsosodik** (Taylor-kúp) és erről a csúcscról töltéssel rendelkező **folyadékcseppecskék szakadnak le**.

A porlasztás elősegíthető a fémkapillárisal koaxiálisan elhelyezkedő külső csőben áramló inert gáz, általában nitrogén alkalmazásával. A porlasztott cseppek átmérője mintegy 1,5 μm , töltésük 10^{-14} C. Az oldószer párolgása miatt a cseppecskék folyamatosan zsugorodnak, a felületi töltéssűrűségük nő, az ebből eredő elektrosztatikus taszítóerő meghaladja a felületi feszültségből adódó összehúzó erőt és a **cseppből újabb cseppecskék szakadnak le**. A folyamat addig tart, amíg a nagyon kis cseppek át nem alakulnak **gázfázisú ionokká**. Míg a kisebb molekulákból (< 1000 dalton) egyszeresen töltött ionok keletkeznek, nagyobb molekulákból többszörös töltésű $[M+nH]^{n+}$ és $[M-nH]^{n-}$ (M: molekula) ionok is keletkeznek, ahol n megfelelő minta esetén a 100-at is elérheti. A többszörös ionizáció miatt ekvidisztáns sorozatok alakulnak ki az ionok töltéskülönbségének megfelelően. Mivel a detektálás m/z szerint történik, a szokásos 4000 tömegszám-tartomány szinte minden molekulaméretre megfelelő. A molekulaionok tömegének számításához az egymástól egy töltésszámú ionokból indulnak ki.



4.2.3.2. ábra. Az elektroporlasztásos ionizációs ionforrás felépítése

Az elektroporlasztásos ionizáció **előnye**, hogy nagy érzékenységgű folyadékkromatográfias (HPLC) és kapillárelektroforézises (CE) készülékekhez is csatlakoztatható. Az elektroporlasztásos technika elsősorban könnyen protonálódó csoportokat tartalmazó vegyületek (aminok, peptidek, fehérjék) vizsgálatára alkalmas.

Közvetítő mátrixot felhasználó lézer deszorpciós ionizáció (MALDI)

A MALDI-technika gyors energiaközlésen alapul. A mintát olyan szerves mátrixban (például nikotinsav, glicerin, 2,5-dihidroxi-benzoésav) oldják fel, mely az alkalmazott lézer hullámhosszán (N_2 : 337 nm, Nd:YAg: 366 vagy 355 nm, Er:YAg: 2,94 μm , CO_2 : 10,6 μm) jelentősen abszorbeál. A minta 10–100 pmol/ μl koncentrációjú és a mátrixalkotó 10 mg/ml koncentrációjú azonos térfogatú oldatát (1–2 μl , a két oldat oldószere megegyezik) keverik össze, majd ezt az oldatot viszik fel a mintatartó lemezre és hagyják megszáradni. A mátrixalkotó: minta arány 2000–5000 : 1, így a mátrix elválasztja egymástól az aggregációra hajlamos molekulákat és a lézerimpulzus hatására bekövetkező (minta + mátrix) elpárolgásnál a minta molekulái egymástól elkülönülten kerülnek a gőzfázisba. A mátrix a lézersugárzás elnyelt energiájával gerjeszti a minta molekuláit, továbbá proton vagy kation átadásával, illetve proton elvonásával segíti a minta ionizációját. A mátrixhoz vagy a mintához gyakran trifluorecsavat adnak, hogy a protonálódást elősegítsék.

A felületről kirobbanó részecskékből az illékony mátrixalkotók gyorsan leválnak, $[M+H]^+$ vagy $[M-H]^-$ ionok (M: mintamolekula) keletkeznek és jutnak az analizátorba. A tömegspektrumban az egyszerűen protonált ionok mellett többszörösen protonált $[M+2H]^{2+}$ - és $[M+3H]^{3+}$ -ionok is jelentkezhetnek, melyek jelenléte megkönnyíti a molekulatömeg megállapítását.

A MALDI igen enyhe ionizációs technika, 300000 Dalton tömegű molekula is mérhető. 10^{-15} mol (femtomolnyi) mennyiségű mintáról már készíthető tömegspektrum. Egyaránt alkalmas biopolimerek és szintetikus polimerek (például polisztirolak, poliakrilátok) vizsgálatára is. Az ionizáló lézer pulzáló üzemmódban működik, ezért főleg repülési idő analizátorhoz (TOF) kapcsolják.

4.2.4. Analizátorok

Az analizátorok szerepe az, hogy az ionforrásból érkező, lehetőleg azonos kinetikus energiájú ionokat fajlagos tömegük (töltésségységre eső tömeg, m/z) szerint elválassza, és a detektorba juttassa. Míg a mintabevitel és az ionizáció történhet vákuumban vagy atmoszférikus nyomáson, addig az analizátorban **nagy vákuum van** (10^{-6} – 10^{-4} Pa), mert csak így biztosítható, hogy az ionok átlagos szabad úthossza nagyobb legyen a detektorig megeendő távolságnál. Működési elv szerint vannak egyszerű és összetett analizátorok.

Az **egyszerű analizátorok**:

- repülési idő (TOF: time of flight) analizátor,
- mágneses analizátorok,

- kvadrupól analizátorok,
- elektrosztatikus analizátor,
- rádiófrekvenciás analizátorok,
- ioncsapda, stb.

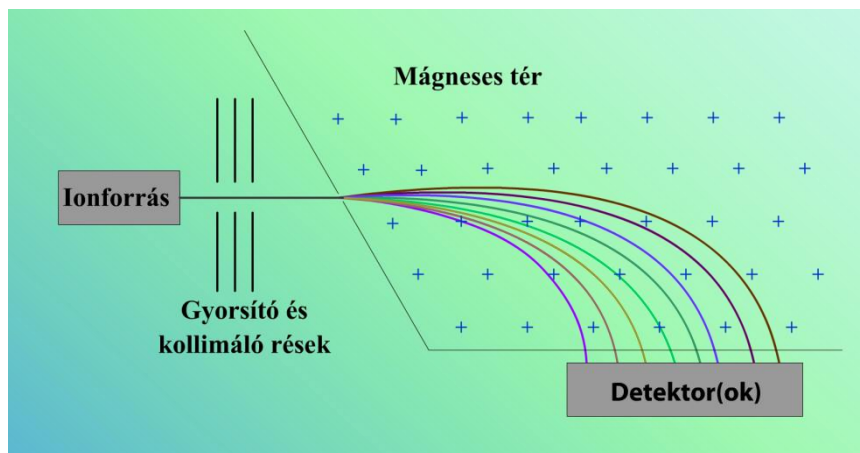
Az **összetett analizátorok**:

- a kettős fókuszálású tömegspektrométerek (pontos tömegmérést tesznek lehetővé),
- tandem (MS-MS) tömegspektrométerek (mágneses-kvadrupól, kvadrupól-kvadrupól, stb.).

Egyszeres (mágneses) és kettős fókuszálású analizátor

Az ionforrásból kilépő ionokat

- az **egyszeres fókuszálású** analizátorokban mágneses tér,
- míg a **kétszeres fókuszálású** analizátorokban mágneses és elektromos terek alkalmazásával választják szét.



4.2.4.1. ábra. A mágneses analizátor felépítése

A $z \times e$ töltésű ionok az **Elektron ionizáció (EI)** című fejezetben leírt kinetikus energiával lépnek be a haladási irányukra merőleges mágneses térbe ($p = 10^{-4}$ Pa), ahol a mágneses térben mozgó töltésre ható erő és a centrifugális erő következtében körpályára kényszerülnek:

$$z \cdot e \cdot v \cdot B \cdot \sin \varphi = \frac{m \cdot v^2}{r},$$

ahol B a mágneses indukció,

φ az ion haladási iránya és B iránya által bezárt szög (jelen esetben $\varphi = 90^\circ$, így $\sin \varphi = 1$),

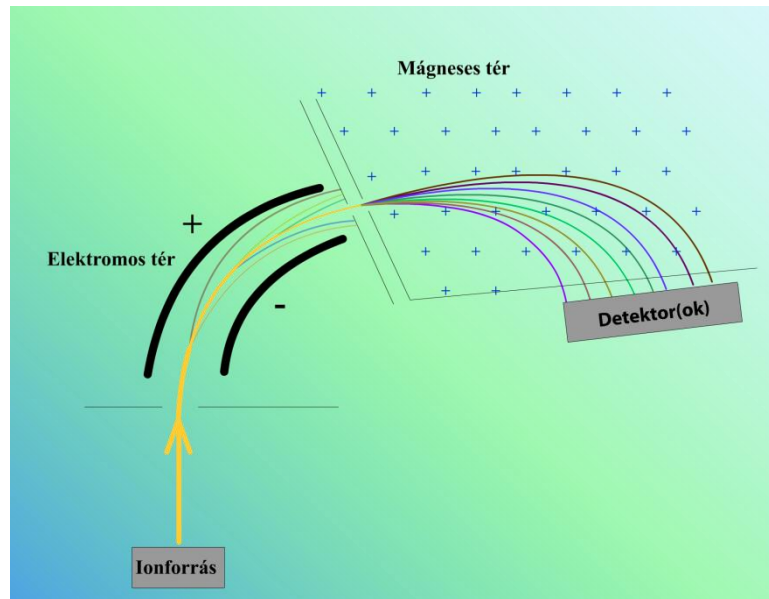
r a körpálya sugara:

$$r = \frac{m \cdot v}{z \cdot e \cdot B} = \frac{m}{z \cdot e \cdot B} \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot z \cdot e \cdot V}{m}} = \sqrt{\frac{2 \cdot V \cdot m}{B^2 \cdot z \cdot e}},$$

mivel az **Elektron ionizáció (EI) fejezetben** szereplő egyenletből a sebesség kifejezhető és az ionpálya sugarát megadó egyenletbe behelyettesíthető. A fenti egyenletből látható, hogy a körpálya sugara az ion impulzusával egyenesen, míg a mágneses indukcióval fordítottan arányos. A **nagyobb m/z értékű ionok körpályájának sugara nagyobb**, tehát a mágneses analizátor a térben szétválasztja az ionokat. Az összes ion egyszerre detektálható fotolemez vagy sordetektor (4.2.5. fejezet) alkalma-

zásával. A másik lehetőség, hogy B vagy V értékének változtatásával különböző m/z értékű ionokat az időben egymás után ugyanarra az r sugarú körpályára kényszerítik (pásztázás).

A valóságban az ionforrásból kilépő, azonos m/z értékű ionok haladási iránya, illetve kinetikus energiája kissé eltérhet egymástól. Az ionok nem egy egyenes mentén, hanem egy szögterületben lépnek ki az ionforrásból. A mágneses szektor a szögszórást kompenzálja, de az ionok kezdeti energiakülönbségét nem képes korrigálni, mivel a mágneses analizátor impulzusuk alapján választja szét az ionokat. Ezért az **azonos m/z értékű, de kissé eltérő kinetikus energiájú ionok eltérő sugarú pályát követnek** a mágneses térben, ezért a mágneses analizátor felbontása alacsony ($R = 2000$). A mágneses analizátor mellett elektrosztatikus analizátort (kettős fókuszálású analizátor) alkalmazva a felbontás jelentősen megnövelhető ($R = 100000$).



4.2.4.2. ábra. A kettős fókuszálású analizátor felépítése

A különböző kinetikus energiájú ionok az E elektromos térerősség irányára merőlegesen lépnek be az elektrosztatikus analizátorba. Az analizátor külső lemeze a vizsgált ionokkal megegyező (általában pozitív), belső lemeze azzal ellentétes potenciálon van (negatív). Az elektromos tér szintén körpályára kényszeríti az ionokat:

$$z \cdot e \cdot E = \frac{m \cdot v^2}{r}$$

Az **Elektron ionizáció (EI) fejezetben** szereplő egyenletből átrendezéssel $m \cdot v^2$ kifejezhető, amit behelyettesítve:

$$r = \frac{2 \cdot V}{E},$$

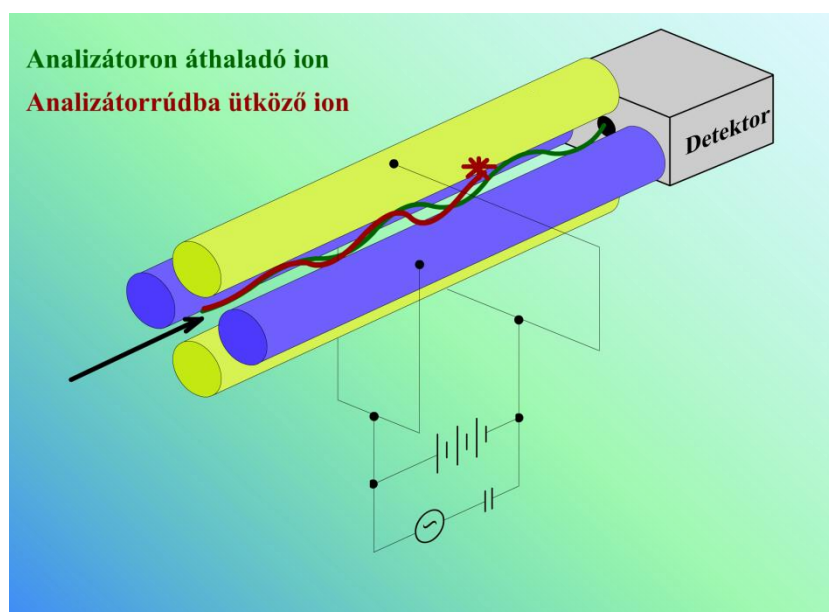
azaz ugyanakkora V gyorsító feszültségen áthaladt ionok ugyanazon az r sugarú pályán fognak mozogni, a pályasugar tehát az ion kinetikus energiájától és nem tömegétől függ. Csak a $z \times e \times V$ kinetikus energiájú ionok fognak az ideális r sugarú körpályán mozogni, a nagyobb, vagy kisebb energiájú ionok nagyobb, illetve kisebb sugarú körpályára kényszerülnek. Így elérhető, hogy az elektrosztatikus analizátor csak egy szűk energiatarományban lévő ionokat engedjen át. A hagyományos Nier-Johnson geometriájú készülékekben az ionok előbb az elektrosztatikus analizátoron haladnak át és utána a mágneses analizátoron, míg a fordított geometriájú készülékekben az analizátorok sorrendje megcserélődik.

Kvadrupól analizátor

A lineáris kvadrupól analizátor négy párhuzamosan elhelyezett, egy képzeletbeli négyzet sarokpontjain áthaladó rúdból áll (4.2.4.3. ábra). A rudak általában henger alakúak, de hiperbolikus keresztmetszetű rudakat is használnak.

Az átlósan szemben lévő rúdpárookra $U_+ + U_- \cdot \cos(\omega \cdot t)$, illetve $-U_+ - U_- \cdot \cos(\omega \cdot t)$ egyen- (U_+ : 500 – 2000 V) és váltófeszültséget (U_- : amplitúdó (0 – 3000 V), ω : körfrekvencia) kapcsolnak.

Az ionforrásból kilépő pozitív ionokat kis feszültséggel gyorsítják, majd belépnek a rudak közötti térbe. A **pozitív töltésű ionokat a pozitív potenciálú rudak eltaszítják, míg a negatív töltésű rudak magukhoz vonzzák**, melynek hatására az ionok haladási irányukra merőlegesen kitérnek. Mivel a **rudak potenciálja folyamatosan változik**, az ionok egyre növekvő oszcilláló mozgással haladnak előre a rudak között. Az oszcilláció amplitúdója az ionok tömegének, töltésének, az átlósan szemközti rudak távolságának, U_+ , U_- és ω függvénye. Ha az oszcilláció **amplitúdója eléri a rudak közti távolság felét**, akkor az ion beleütközik az egyik rúdba és töltését elveszti. Az ionok tömege és töltése, a rudak távolsága állandó, valamint ω értékét konstans értéken tartva az oszcilláció mértéke U_+ és U_- értékének változtatásával szabályozható. Ha U_+ és U_- értékét úgy változtatják, hogy közben U_+/U_- változatlan marad, akkor mindig egy másik adott m/z aránnyal rendelkező ion tud áthaladni az analizátoron.

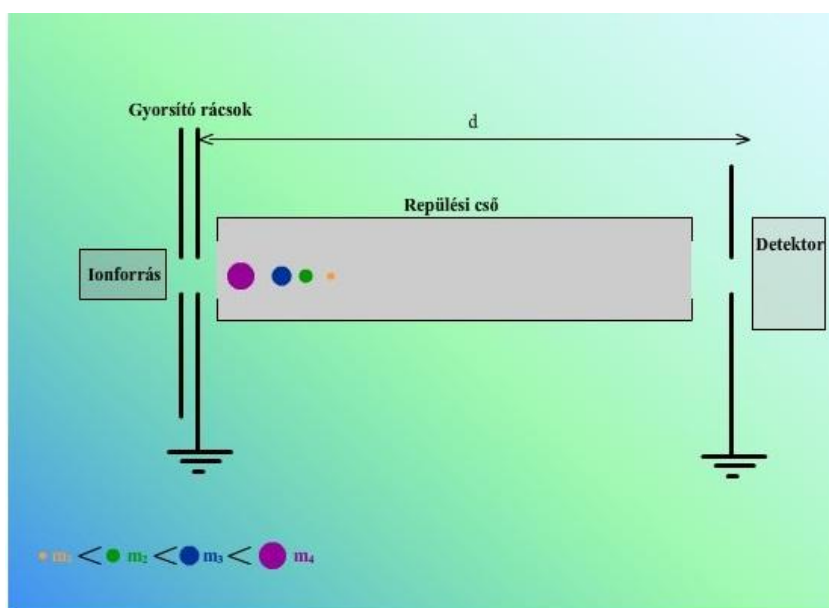


4.2.4.3. ábra. A lineáris kvadrupól felépítése

A lineáris kvadrupól analizátorok $m/z = 4000$ értékig alkalmazhatóak. Felbontásuk nem nagy $R \approx 1000 - 2000$. Előnyük, hogy a mért ionáramok dinamikus mérési tartománya 7 nagyságrendet tesz ki, valamint az analizátorban alkalmazható viszonylag magasabb (10^{-3} Pa) nyomás. Gyakran használják GC-MS-, LC-MS-, illetve tandem MS-MS-berendezésekben.

Repülési idő (Time of flight, TOF) analizátor

Az ionforrásból kilépő ionokat felgyorsítják (lásd az egyenletet az **Elektron ionizáció (EI) fejezetben**), majd egy elektromos és mágneses tétől mentes, vákuum alatt lévő (10^{-4} Pa) ún. repülési csőbe juttatják. Az ionok kinetikus energiája nagyjából megegyezik, ezért az eltérő tömegű ionok különböző sebességgel haladnak, a kisebb tömegű ionok sebessége nagyobb, hamarabb érik el a cső végén lévő detektort.



4.2.4.4. mozgó ábra. A repülési idő analízátor felépítése és működése

Az Elektron ionizáció (EI) fejezetben szereplő egyenletet átrendezve felírható, hogy:

$$\frac{m}{z \cdot e} = \frac{2 \cdot V}{v^2} = \frac{2 \cdot V \cdot t^2}{d^2},$$

ahol d a az utolsó gyorsító rács és a detektor közti távolság és t az ion repülési ideje ($v = d/t$). Ha a d és V konstans, akkor felírható, hogy

$$\frac{m}{z} = k \cdot t^2, \text{ illetve } t = d \cdot \sqrt{\frac{m}{2 \cdot z \cdot e \cdot V}} = \sqrt{\frac{m}{k \cdot z}}$$

Az egyenletekből látható, hogy egyrészt m növekedésével $\Delta m = 1$ változáshoz egyre kisebb Δt értékek tartoznak, így technikailag egyre nehezebb a pontos időmérés, ezáltal nagyobb tömegértékeknél nehezebben érhető el ugyanaz a felbontás. Másrészt a pontos repülési idő meghatározásához ismerni kell a $t = 0$ időpontot, ezért alkalmaznak pulzáló ionizálást a TOF-analízátor alkalmazása esetén. A $t = 0$ időpont lehet például a lézerimpulzus bekapcsolásának időpontja (MALDI-TOF). A gyakorlatban az m/z értéket

$$\frac{m}{z} = k \cdot t^2 + c$$

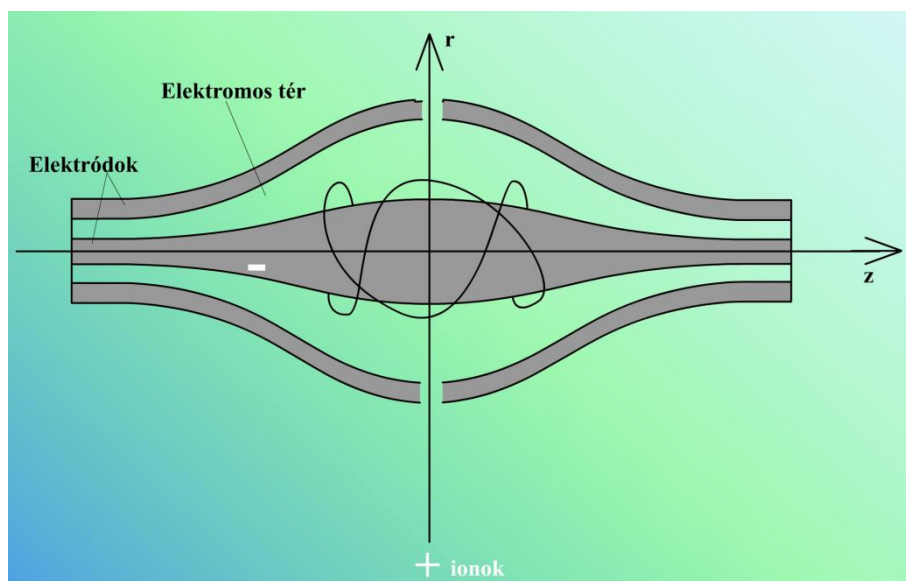
egyenletből határozzák meg. A két konstans (k és c) értékét két pontosan ismert iontömeg repülési idejének mérésével kapják meg.

Az Elektron ionizáció (EI) című fejezetben szerepel, hogy az azonos m/z értékű ionok az ionforrásból nem pontosan ugyanakkora kinetikus energiával lépnek ki. A reflektoron vagy iontükör segítségével az ionok kinetikus energiájának különbségét csökkenteni lehet. A reflektoron a repülési cső végén az ionnyaláb irányára merőlegesen (koaxiális elrendezés) vagy egy adott szöget bezárva (Mamyrin-reflektoron) helyezkedik el. A reflektoron polaritása azonos a vizsgált ionokéval, így az ionok a reflektoronba érve lelassulnak, majd a megállás után elkezdnek visszafelé gyorsulni és ugyanazzal a kinetikus energiával lépnek ki, mint amellyel beérkeztek. A nagyobb kinetikus energiájú ionok hamarabb érkezik a reflektoronba, mélyebben hatolnak be, tovább tartózkodnak benne és emiatt később, de nagyobb kinetikus energiával lépnek ki, mint kisebb kinetikus energiájú társaik. A detektort azonban azonos m/z értékű ionok a kissé eltérő kinetikus energiájuktól függetlenül ugyanabban az időpontban érik el. Míg a reflektoronnal nem rendelkező TOF analízátorok esetében $R = 5000$, addig a reflektoronos TOF-analízátoroknál $R = 30000$, sőt néha több is lehet. A reflektoron használatának azonban hátránya,

hogy a beeső ionnyaláb jelentős része elveszik ütközés és szóródás miatt. Ez főleg nehezebb ionoknál okoz problémát, mert az alkalmazott sebességérzékeny detektor miatt a nagyobb tömegű ionok eleve rosszabbul mérhetőek, ezért nehezebb ionok mérésekor a reflektoron üzemmódot nem alkalmazzák – mérhető m/z : akár 1000000 is (TOF); maximum 10000 (TOF-reflektoron).

Az elektrosztatikus csapda (Orbitrap) analízátor

Az analízátorok közül a legújabb az elektrosztatikus csapda analízátor, melyet az ezredforduló környékén fejlesztettek ki (Alexander Makarov, szabadalmak: 1996 és 2004). Az első, elektrosztatikus csapda analízátorral ellátott készülék 2005-ben került kereskedelmi forgalomba. Az analízátor (4.2.4.5. ábra) **két elektródból áll**, egy hordó alakú, két részből álló külső elektródból (maximális átmérő 2 cm) és egy belső, orsó alakú elektródból (maximális átmérő 0,8 cm). A külső elektród földpotenciálban van, míg a belső elektród potenciálja 3200 V, a **potenciál előjele ellentétes a mérendő ion** töltésének előjelével. Az ionokat tangenciálisan a külső elektród két részét elválasztó részen vezetik be az analízátorba ($p = 10^{-8}$ Pa) és az ionok a **z-tengely mentén elkezdnek spirálisan oszcilláló mozgást** végezni a belső elektród körül. Az oszcilláció létrejöttéhez az ionoknak 1600 eV körüli kinetikus energiával kell rendelkezniük. **Az oszcilláció frekvenciája fordítottan arányos m/z négyzetgyökével és független az ionok kinetikus energiájától.** A mérés során oszcilláló ionok által indukált áram erősségét detektálják az idő függvényében. A mért jel-idő függvény **Fourier-transzformációjával** az egyes oszcillációs frekvenciák és azok intenzitása, ezen adatokból pedig a tömegspektrum számolható.



4.2.4.5. ábra. Az elektrosztatikus csapda (Orbitrap) analízátor felépítése

Az elektrosztatikus csapda analízátort használva $m/z = 50000$ ionok is mérhetőek. Az analízátor felbontása függ a detektálási időtől, a hosszabb detektálási idő nagyobb felbontást eredményez. A felbontás meghaladhatja a 100000 értéket is. A tömegmérés pontossága belső, illetve külső kalibrációnál 2, illetve 5 ppm.

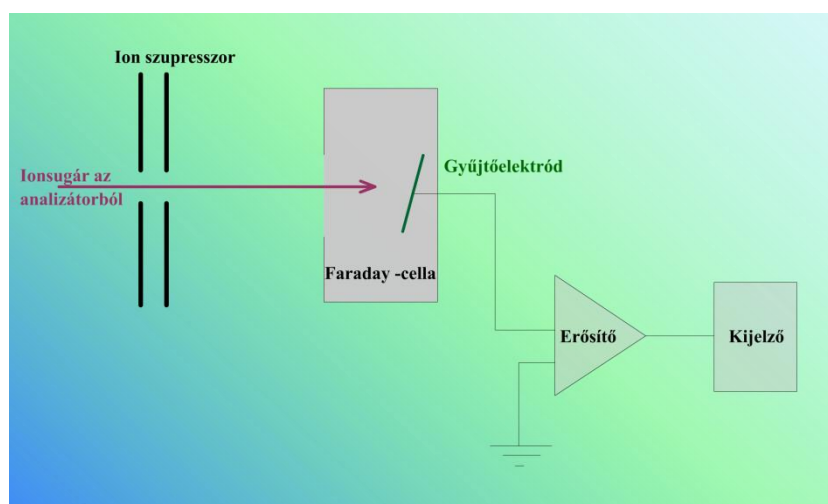
4.2.5. Detektorok

A tömeganalízátorból kilépő ionok a detektorba ütköznek. Az iondetektorokat két csoportba lehet osztani, a pontdetektorokra és a sordetektorokra.

	Hol detektál?	Hol használják?	
A pontdetektoroknál	az ionok egymás után érik el a detektor ugyanazon pontját	kvadrupol analizátornál	a mágneses vagy kettős fókuszálású analizátoroknál,
A sordetektoroknál	minden ion egyszerre, de más helyen éri el a detektorsort	előnyös, ha szűk tömegtartományba eső ionokat vizsgálnak, illetve nagyon csekély anyagmennyiségek esetében	melyek térben választják szét a mérendő ionokat sor- és pontdetektor egyaránt alkalmazható

4.2.5.1. táblázat. A pont- és a sordetektorok összehasonlítása

Korábban a tömegspektrográfokban a fotolemezt használták detektorként, melyekkel hosszú exponálási időt alkalmazva kis anyagmennyiségeket lehetett nagy felbontással mérni. A fotolemezek elsősorban minőségi analízisre voltak használhatóak. A mennyiségi analízishez a spektrumvonalak intenzitásának mérésére volt szükség, melynek pontossága elmarad a modern detektorok pontosságától. Manapság már ritkán használatosak.



4.2.5.1. ábra. A Faraday-cella felépítése

A Faraday-cella (4.2.5.1. ábra) egy fémcella. Az elektródnak ütköző pozitív ionok töltésének semlegesítésére elektronok áramlanak a cella felé, mely az ellenálláson áthaladva feszültségesést okoz. A feszültségesés erősítés után mérhető.

A leggyakrabban alkalmazott pontdetektorok az elektronsokszorozók, melyekkel igen kis ($< 10^{-15}$ A) áramok is mérhetőek. Működési elvük hasonló a 1.2.4. fejezetben leírt fotoelektron-sokszorozóéhoz. Az analizátorból érkező ion az elektronsokszorozó katódjába ütközik, melyből ennek hatására elektronok lépnek ki. Ezek az elektronok a következő dinóda felé haladva a két dinóda közti potenciálkülönbség hatására felgyorsulnak, becsapódáskor még több elektront löknek ki. A dinódasoron végighaladva 10^6 – 10^8 -szoros erősítés érhető el. A folytonos felületű elektronsokszorozókban nem különálló dinódák vannak, hanem egy kisméretű cső belső felülete van elektronnemittáló réteggel bevonva, ebbe ütközik bele az analizátorból érkező ion. Az elektronáram a kis cső két vége közti potenciálkülönbség (2 kV) hatására végighalad a csövön. A channeltron olyan folytonos felületű elektronsokszorozó, melynek alakja változik. A változó alak hatására csökken az elektronok visszaszóródása, és ezáltal a detektor elektronikus zaja. Channeltronokból sordetektor is készíthető.

A mikrocsatornasor detektor működése hasonlít a folytonos felületű elektronsokszorozóhoz, csak itt sok 4–25 μm belső átmérőjű és 1–2 mm hosszú csővecske van egymás mellé helyezve. A kis belső átmérő és rövid csőhossz miatt az ionok becsapódáskor keletkező elektronáram nagyon gyorsan

végighalad a csövön, ezért a detektor válaszideje kicsi, így jól alkalmazható repülési idő analízátort tartalmazó készülékeknél.

A fotokonverziós ún. Daly-detektoroknál a konverziós dinódába csapódó ionok által kilökött elektronok egy szcintillátorba (például foszforkorong) ütköznek, az emittált fotonok fotoelektron-sokszorozóval, diódasoros detektorral vagy CCD-detektorral mérhetőek.

5. ELLENŐRZŐ KÉRDÉSEK

5.1. ÁLTALÁNOS SPEKTROSKÓPIAI KÉRDÉSEK

1. Milyen kapcsolat van a hullámhossz, a hullámszám és a frekvencia között?
2. Számítsa ki a frekvenciáját annak a fénynek, amelynek hullámszáma (vákuumban) 2800 cm^{-1} . A fény sebessége vákuumban $2,998 \times 10^5 \text{ km/s}$.
3. Hány százalékkal nagyobb vagy kisebb az 595 nm hullámhosszúságú fény fotonjának energiája a 686 nm hullámhosszúságú fény fotonjának energiájánál?
4. Mi a spektrum?
5. A és B folyadék optikai tulajdonságait hasonlítjuk össze. A folyadékok törésmutatója 689 nm hullámhosszúságú fényre nézve $n_A = 1,325$; $n_B = 1,642$. Az adott fény hány %-kal terjed gyorsabban vagy lassabban az A közegben, mint a B-ben?
6. Ismertesse az anyag és a fény közötti lehetséges kölcsönhatásokat!
7. Egy molekulát ultraibolya fotonnal gerjesztünk.
 - a. Az elnyelt foton hatására megváltozik-e a molekula rezgési állapota?
 - b. Megszűnhet-e a gerjesztett állapot fotonkibocsátással, illetve fotonkibocsátás nélkül?
8. Ismertesse az abszorpciós, emissziós és fluoreszcens mérések mennyiségi meghatározásának alapjául szolgáló összefüggéseket!
9. A látható és ultraibolya tartományban hogyan befolyásolja a mintát megvilágító monokromatikus fény intenzitása
 - a. a minta százalékos fényáteresztését,
 - b. a minta fluoreszcenciájának intenzitását?
10. Egy 10^{-4} mol/dm^3 koncentrációjú oldat egy 1 cm -es küvettában 525 nm hullámhosszon mérve 20% -os fényáteresztést mutatott.
 - a. Mekkora az anyag ϵ moláris abszorpciós együtthatója ezen a hullámhosszon?
 - b. Ugyanez az oldat 2 cm -es küvettában, ugyanezen a hullámhosszon mérve mekkora abszorbanciát eredményez?
 - c. Milyen koncentrációjú ugyanennek az anyagnak az oldata, ha 1 cm -es küvettában, ugyanezen a hullámhosszon mérve 50% fényáteresztést mérünk?
11. Milyen részegységekből épülnek fel az optikai spektrométerek?
12. Ismertesse a volfrámizáló működési elvét! Hol alkalmazzák?
13. Mire használják a monokromátort és az interferométert? Ismertesse a működési elvüket!
14. Hasonlítsa össze az egyutas és kétutas spektrométerek felépítését és működését!
15. Rajzolja fel egy abszorpció, illetve egy fluoreszcencia mérésére alkalmas berendezés vázlatát (mérési elrendezését), adja meg a különböző egységek nevét!

5.2. ATOMSPEKTROSKÓPIAI KÉRDÉSEK

1. Milyen alcsoportjai vannak az atomspektroszkópiai módszereknek?
2. Hogyan jellemezhető az atomspektroszkópiai módszerekkel meghatározható elemek köre?
3. Közéltőleg hány elem meghatározása lehetséges és mely elemek nem vizsgálhatók?
4. Mi az előnyeinek vannak az oldatos atomspektroszkópiai módszereknek?
5. Milyen összefüggéssel számítjuk az atomspektroszkópiai módszerek kimutatási határait?
6. Milyen kapcsolat van a kimutatási határ és a módszer precizitása (RSD %) között ($1c_L$, $2c_L$, $3c_L$)?
7. Mi a kapcsolat a készülékre és a mintára számított kimutatási határ között?
8. Milyen folyamatok szolgáltatják az analitikai információt az atomspektroszkópiai módszerekben?
9. Milyen állapotba kell hozni a minta komponenseit atomspektroszkópiai vizsgálathoz?
10. Hogyan jellemezhető a szabadatomos, illetve szabadionos állapot?
11. Hogyan, milyen eszközökkel hozzuk létre a szabadatomos, illetve szabadionos állapotot?
12. Milyen négy alapelvet használnak a korszerű elemanalitikai módszerek a szabadatomok, szabadionok meghatározására?

13. Milyen spektrumot eredményez a szabadatomok, szabadionok elektrongerjesztése?
14. Hogyan keletkeznek az atomspektrumok, milyen kapcsolat van az elektronszerkezet és a vonalas atomspektrum között?
15. Milyen információt hordoz a spektrumban a spektrumvonal hullámhossza és intenzitása?
16. Milyen atomi folyamatok játszódnak le az atomemissziós elv alkalmazásakor?
17. Milyen fő elemei vannak egy atomemissziós készüléknek?
18. Milyen atomi folyamatok játszódnak le az atomabszorpciós elv alkalmazásakor?
19. Milyen fő elemei vannak egy atomabszorpciós készüléknek?
20. Milyen atomi folyamatok játszódnak le az atomfluoreszcenciás elv alkalmazásakor?
21. Milyen fő elemei vannak egy atomfluoreszcenciás készüléknek?
22. Milyen atomi folyamatok jellemzik a külső ionforrással működő tömegspektrometriás módszert?
23. Milyen fő elemei vannak egy ICP-MS-készüléknek?
24. Milyen folyamatok játszódnak le a termikus sugárforrásokban?
25. Mik a legfontosabb analitikai sugárforrások?
26. Milyen folyamatok játszódnak le a nemtermikus sugárforrásokban?
27. Milyen folyamatok játszódnak le a termikus atomforrásokban?
28. Melyek a legfontosabb analitikai atomforrások?
29. Milyen nemtermikus atomforrást használunk?
30. Milyen a felépítése a lamináris, diffúziós és a lamináris előkevert lángnak?
31. Milyen főkomponensek találhatóak a levegő-acetilén lángban?
32. Milyen lángokat használhatunk az atomabszorpciós készülékekben?
33. Milyen hőmérsékletet érhetünk el a különböző lángokkal?
34. Miért szükséges különböző égőfejeket használni a különböző lángokhoz?
35. Milyen részeket tartalmaz egy láng emissziós spektruma?
36. Milyen elven működik a nagyfeszültségű szikra sugárforrás?
37. Milyen paraméterekkel jellemezhető a szikrakisülés?
38. Milyen kölcsönhatás van a szikrakisülés és a minta között?
39. Milyen minták elemzésére használható a szikra sugárforrás?
40. Milyen fő egységei vannak egy induktív csatolású plazma sugárforrásnak?
41. Milyen elven folyamatok hozzák létre az induktív csatolású plazmát és milyen a felépítése?
42. Milyen paraméterekkel jellemezhető az induktív csatolású plazma (összetétel, hőmérséklet, hőmérsékleteloszlás)?
43. Milyen technika problémák jelentkeznek az ICP működtetésekor?
44. Milyen leképezési módokat használnak az ICP-OES-készülékekben?
45. Milyen elven működik a síkkatódos glimmlámpa és milyen paraméterekkel jellemezhető?
46. Milyen elven működik a grafitkemence atomizáló és milyen paraméterekkel jellemezhető?
47. Milyen két grafitcső konstrukciót és fűtőmódot alkalmaznak a grafitkemence atomizálóknak?
48. Mi az oka, hogy a grafitkemence-atomizálóval 2-3 nagyságrenddel jobb kimutatási határokat kapunk, mint láng atomizálóval?
49. Milyen főbb szakaszokra bontható egy oldat minta átalakulása a sugárforrásokban és atomforrásokban?
50. Mi a különbség mintabeviteli szempontból a kapcsolt források és az integrált források között?
51. Milyen részfolyamatokon keresztül kapjuk az analitikai jelet OES-, AAS-, AFS- és ICP-MS-módszer esetén?
52. Milyen elven juttatjuk az oldat mintát áramló közegű forrásokba (láng, ICP)?
53. Mi a különbség a direkt és indirekt porlasztók között?
54. Milyen egy koncentrikus porlasztó felépítése és hogyan működik?
55. Milyen elemei vannak egy indirekt atomabszorpciós porlasztó egységnek és hogyan jellemezhető a működése?
56. Hogyan alakul a cseppméreteloszlás a porlasztókamrában?
57. Az elporlasztott mintának közelítőleg milyen hányada jut a lángba (Láng-AAS)?
58. Milyen fontosabb porlasztó típusokat használunk az ICP-OES-készülékekben?

59. Milyen fő különbségek vannak az AAS- és ICP-OES-készülékekben használt porlasztók között?
60. Milyen viszonylag stabil molekulákat találunk a nagyhőmérsékletű források disszociációs folyamataiban?
61. Milyen általános egyenletek jellemzik a termikus disszociációs folyamatot?
62. Milyen általános egyenletekkel írható le az elektrongerjesztés és a spontán fényemisszió?
63. Milyen általános egyenletekkel írható le a termikus ionizáció?
64. Milyen általános összefüggéssel adható meg az összes részecskekoncentráció egy adott elemre a forrásokban?
65. Milyen tényezők befolyásolják egy MO összetételű oxid termikus disszociációs egyensúlyát?
66. Milyen tényezők befolyásolják a szabad atomok termikus ionizációs egyensúlyát?
67. Milyen tényezők befolyásolják egy emissziós mérésnél a szinképvonal intenzitását?
68. Milyen tényezők befolyásolják az atomabszorpciós mérésnél az abszorbanciát?
69. Milyen az emissziós spektrum felépítése reális analitikai sugárforrásokban?
70. Hogyan értelmezzük, illetve számítjuk a vonalintenzitást emissziós spektrumokban?
71. Milyen az abszorpciós spektrum felépítése reális analitikai atomforrásokban?
72. Hogyan értelmezzük, illetve számítjuk az atomos abszorbanciát atomabszorpciós spektrumokban?
73. Milyen analitikai feladatok megoldására alkalmazzuk a lángemissziós módszert?
74. Milyen analitikai feladatok megoldására alkalmazzuk a szikra-OES-módszert?
75. Milyen előnyei és hátrányai vannak az ICP-OES-módszernek?
76. Milyen részegységekből épül fel egy ICP-OES-készülék?
77. Mi az ICP-OES-készülék egyes egységeinek feladata?
78. Milyen elemei vannak az ICP-sugárforrásnak és hogyan jellemezhetők az egyes egységek?
79. Mi a lényege axiális és radiális kombinált leképezésnek?
80. Hogyan épül fel egy echelle polikromátoros CCD-detektoros ICP-OES-készülék fényfelbontó egysége?
81. Milyen felépítésű az echelle polikromátoros készülékben a detektor felületen megjelenő spektrum (echellogram)?
82. Hogyan értelmezzük az ICP-OES-készülékkel kapott spektrumban a háttérrel, mi a vonal melletti háttérkorrekció elve?
83. A háttérkorrekció milyen három alapesetét használhatjuk az ICP-OES-készülékekben?
84. Milyen alakú az ICP-OES-mérés kalibrációs függvénye ideális esetben és reális körülmények között nagyobb koncentrációtartományban?
85. Milyen részegységekből áll és hogyan működik egy folytonos spektrumú fényforrással működő AAS-készülék?
86. Milyen részegységekből áll és hogyan működik egy vájtkatódú lámpa fényforrással működő AAS-készülék?
87. Milyen felépítésű egy vájtkatódú lámpa és hogyan működik?
88. Milyen alakú az AAS-mérés kalibrációs függvénye ideális esetben és reális körülmények között?
89. Milyen elemeket tartalmaz, és hogyan működik a láng-AAS-készülék porlasztó-égő egysége?
90. Milyen szempontok szerint történik a láng megválasztása?
91. Milyen zavaróhatásokkal kell számolnunk a láng-AAS-módszer esetén?
92. Hogyan küszöböljük ki a zavaróhatásokat?
93. Milyen elemeket tartalmaz, és hogyan működik egy grafitkemence atomizáló?
94. Milyen fűtémódokat programozhatunk a GF-AAS-készüléken?
95. Hogyan történik a minta bemérése a GF-AAS-készüléken?
96. Milyen funkciói vannak GF-AAS-készülék az automata bemérőjének?
97. Milyen négy alap szakaszra bomlik a GF-AAS-mérés programja és mik egyes szakaszok funkciói?
98. Milyen jellegűek a GF-AAS-elemzés jelei és milyen módon mérjük a jelet (abszorbancia)?

99. Hogyan történik a hőkezelési és atomizálási szakasz kísérleti optimalása, a hőkezelési és atomizálási görbék felvétele és értékelése?
100. Milyen célt szolgálnak a mátrixmódosítók a GF-AAS-elemzésben?
101. Milyen elven működik a hidegködös higany-AAS-módszer?
102. Milyen előnyei és hátrányai vannak az ICP-MS-módszereknek?
103. Hogyan jellemezhetők a kifelbontású ICP-MS-készülékkel felvett tömegspektrumok (izobárok, molekulaionok)?
104. Hogyan javul a tömegspektrumok információ tartalma nagyfelbontású ICP-MS-készülék alkalmazásával?
105. Milyen részegységekből épül fel egy ICP-MS-készülék?
106. Mi az ICP-MS készülék egyes egységeinek feladata?
107. Hogyan történik az ICP-ionforrásban előállított ionok bevitele a tömegspektrométerbe (csatoló egység)?
108. Mi az ionoptika szerepe a készülékben?
109. Milyen elven működő analizátorokat alkalmaznak a kommerciális ICP-MS-készülékekben?
110. Milyen elemekből épül fel egy kvadrupol ICP-MS-készülék és milyen paraméterekkel jellemezhető?
111. Hogyan származtatjuk az ICP-MS-mérést zavaró molekulaionokat (plazma, mátrix)?
112. Milyen módszereket használhatunk a molekulaion zavarások kiküszöbölésére?
113. Milyen elemekből épül fel egy nagyfelbontású, kettősfókuszálású ICP-MS-készülék és milyen paraméterekkel jellemezhető?

5.3. MOLEKULASPEKTROSKÓPIAI KÉRDÉSEK

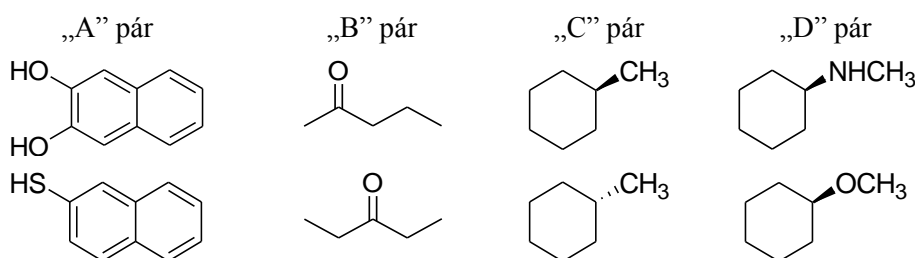
1. Mít nevezünk kromofórnak és auxokrómnak csoportnak?
2. Milyen elektronátmenetek játszódhatnak le a molekulában az elektrongerjesztés során?
3. Mikor nem alkalmazható a Bouguer–Lambert–Beer-törvény?
4. Ismertesse az UV-VIS-spektroszkópia analitikai alkalmazásait.
5. A folyadékkromatográfiában gyakran alkalmaznak ultraibolya spektrofotométert detektorként, úgy, hogy a mérés a kromatogram felvétele alatt végig egyetlen rögzített hullámhosszon történik. Milyen anyagok mérhetők így, milyen eluensekben? Mi a mért jel és milyen kapcsolatban van ez a jel a minta koncentrációjával?
6. X és Y két szerves vegyület. Egy ismeretlen oldatnak, amely mindkettőt tartalmazza, 440 nm-en 0,120, míg 610 nm-en 0,605 az abszorbanciája. A tiszta (Y -mentes) 10^{-3} mol/dm³ koncentrációjú X oldat abszorbanciája 440 nm-en és 610 nm-en 0,045, illetve 0,840. A 10^{-4} mol/dm³ koncentrációjú tiszta Y oldat megfelelő értékei: 0,205 (440 nm) és 0,025 (610 nm). Mekkora X és Y koncentrációja az ismeretlen oldatban? Az oldószer és a kísérő anyagok az egyik hullámhosszon sem nyelnek el.
7. Acetonitrilben oldott két szerves anyag (A és B) koncentrációját kell mérni egymás mellett, spektrofotometriás módszerrel. A 10^{-4} mol/dm³ koncentrációjú tiszta A oldat esetén a mért abszorbancia 240 nm-en 0,260, 290 nm-en 0,885 egység. 10^{-4} mol/dm³ koncentrációjú tiszta B oldat esetén az előző két hullámhosszon rendre 1,040, illetve 0,282 egységet kapunk. Az ismeretlen oldatban 240 nm-en 4,203, 290 nm-en 1,601 értékű abszorbanciát mérünk. Számítsa ki A és B koncentrációját! Az összes mérést azonos körülmények között végezték, az oldószer és az esetleges szennyezők a fenti hullámhosszakon nem nyelnek el.
8. Milyen anyagok mérhetőek fluoreszcenciaspektroszkópiával?
9. Mi a kioltás?
10. Egy fluoreszcenciára képes anyagból oldatot készítenek és négyzet alapú küvettába töltik. A küvettát a szokásos módon, azaz az egyik oldalfalára merőleges, monokromatikus fénynyalábbal világítják meg. A besugárzó fény hullámhossza alkalmas a fluoreszcens anyag gerjesztésére.
 - a) Milyen irányba lépnek ki a fluoreszcens fotonok az oldatból?
 - b) Ha a fluoreszcenciát monokromatikus fénynyalábbal váltják ki monokromatikus lesz-e a fluoreszcens fény?

c) Ha a megvilágító fény intenzitását kétszeresére növelik, hogyan változik a fluoreszcens fény intenzitása?

11. Miért alkalmazható a luminol vérnyomok kimutatására?
12. Mit nevezünk normálrezgésnek?
13. Milyen következményei vannak annak, hogy a molekulák rezgéseinek potenciálgörbéi anharmonikusak?
14. Hogyan lehet a rezgéseket csoportosítani?
15. Milyen technikák vannak szilárd, folyadék és gáz halmazállapotú minták infravörös spektrumának felvételére.
16. Miért használható molekulák szerkezetének a felderítésére az infravörös spektroszkópia?
17. Hasonlítsa össze az infravörös és a Raman-spektrum információtartalmát!
18. Milyen tényezők befolyásolják a besugárzó fény hullámhosszának kiválasztását a Raman-spektroszkópiás méréseknél?

5.4. TÖMEGSPEKTROSKÓPIAI KÉRDÉSEK

1. Mit értünk tömegspektrumon? Váolja fel sematikusan, hogy egy nagyobb molekula mérése esetén mit láthatunk a tömegspektrumon!
2. Mi a molekulacsúcs? Előfordulhat-e, hogy a molekulacsúcs nem jelenik meg a spektrumban?
3. Mi a felbontóképesség?
4. Ismertesse a tömegspektrométer részegységeit! Milyen nyomáson működnek a tömegspektrométerek, és miért?
5. Milyen ionforrásokat alkalmaznak a tömegspektrometriában?
6. Mi a tömegspektrométerekben használt kvadrupól analízátor működésének alapja?
7. Mi a különbség a pontdetektorok és a sordetektorok között?
8. Egy tömegspektrométer analizátorába történő belépés előtt egy 60 dalton tömegű, $m/z = +1$ töltésű molekulaionnal (10 kV gyorsítófeszültség hatására) $1,6 \times 10^{-15}$ J energiát közlünk. Mekkora lesz a sebessége (m/s)?
9. Az alábbi molekulapárok közül melyek megkülönböztetése lehetséges az eltérő molekulaionok és/vagy a különböző fragmentációs mechanizmusok alapján? Van olyan molekulapár, amelyek megkülönböztetése tömegspektrometriaik alapján nem lehetséges?



III. MŰSZERES ANALITIKA

C. ELVÁLASZTÁSTECHNIKA

Tartalom

1. Bevezető	308
2. Kromatográfia	310
2.1. Bevezetés a kromatográfiába.....	310
2.2. Gázkromatográfia	330
2.3. Folyadékkromatográfia	351
3. Elektroforézis	359
3.1. Az elektroforézis rövid ismertetése	359

1. BEVEZETŐ

Az analitikai mérési módszerek sohasem abszolút szelektívek egy-egy mérendő komponensre. Ezért a legtöbb összetett minta esetén a mérés előtt szükség van a mérést potenciálisan **zavaró komponensek eltávolítására**. Extrém esetben a meghatározandó anyagot a minta összes többi összetevőjétől el kell választanunk, miközben esetleg hozzáteszünk olyan anyagokat, amelyek eredetileg nem voltak a mintában (pl. a lecsapószer a gravimetriában). **Az elválasztáson térbeli elkülönítést értünk.**

- Ha a mérendő anyagnak az a tulajdonsága, amely alapján az elválasztás történik (pl. illékonyosság, megoszlási hányados) **nagyságrendekkel különbözik a zavaró anyagokétól**, akkor az elválasztásra sokféle lehetőség van pl.:
 - desztilláció, kilúgozás, folyadék-folyadék extrakció, adszorpció, hűtéses kicsapás gőzelegeből, stb.

Ezek a műveletek – legalábbis az egylépéses változataik – két frakcióra választják a minta komponenseit. **A cél az**, hogy a minta **mérendő** komponensének **teljes mennyisége az egyik frakcióba kerüljön**, a zavaró anyagok pedig a másikba. Ha a mérendő anyag csak kevésbé különbözik a zavaró anyagoktól, akkor a helyzeten javítani lehet többszöri fracionálással, ami azonban nagyon munkaiigényes.

- Ha az egymástól **elválasztandó anyagok nagyon hasonlóak**, akkor a fenti módszerek nem használhatók. Ezekben az esetekben alkalmazzuk az elválasztástechnika különösen hatékony módszereinek valamelyikét, általában:
 - a **kromatográfiát**, vagy
 - az **elektroforézist**.

Mindkét technika lényege, hogy a minta összetevői a berendezésben egy adott irányba mozognak, de különböző sebességgel, és ezért egy idő után elválnak egymástól.

(Tulajdonképpen hasonló a lényege egy harmadik, szintén gyakran használt módszernek, a tömegspektrometriának is, de ezt hagyományos okokból nem elválasztási, hanem mérési módszernek tekintjük.)

A térben elválasztott **komponensek mennyiségét (koncentrációját) valamilyen detektorral mérjük**. A detektorok általában rendelkeznek valamilyen szelektivitással; ezért az elválasztásnak nem mindig kell tökéletesnek lenni, bizonyos anyagok a mérendő anyag mellett maradhatnak.

A térbeli elkülönítés sebességkülönbségen alapszik.

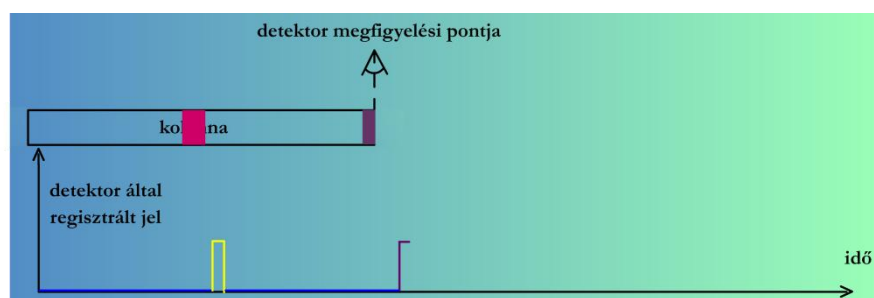
A minta, vagyis a szétválasztandó elegy egy kis részletét egy „versenypálya” startvonalához helyezik, ahonnan a **különböző komponensek különböző sebességgel haladva** jutnak el a „cél”-hoz, vagyis a detektorhoz.

A detektoron először a leggyorsabb komponens zónája halad át, ezt követi egy idő múlva a második leggyorsabb komponens és így tovább.

Mivel a komponensek zónáinak szélessége nem nulla, a detektor az egyes komponenseket nem csak egy pillanatra, hanem **egy bizonyos ideig érzékeli**. Ez az idő függ a zóna szélességétől és annak haladási sebességétől (4.2.5.1. mozgó ábra).

Ha két komponens sebessége csak kissé különböző, akkor előfordulhat, hogy a két komponens zónája még nem vált szét teljesen, mire a detektorba érnek.

Teljes szétválásról csak akkor beszélhetünk, ha az elől haladó komponens zónája már elhagyta a detektort, amikor a következő zóna eleje a detektorba ér.



4.2.5.1. mozgó ábra. Térbeli elválasztás detektálása

A továbbiakban a kromatográfia és az elektroforézis elválasztási folyamatát vizsgáljuk. A gyakorlatban mindkét módszernek számos változata használatos.

2. KROMATOGRÁFIA

2.1. BEVEZETÉS A KROMATOGRÁFIÁBA

2.1.1. *Eredete*

Az analitika elválasztási módszereinek egy nagy csoportja a kromatográfia.

Az első igazi kromatográfia M. Cvet orosz botanikus nevéhez köthető, aki egy függőlegesen elhelyezett, kalcium-karbonáttal töltött üvegcsövet használt növényi pigmentek elválasztására a XX. század első évtizedében. A növényi kivonatot az oszlopon alkohollal átmosva egyenletes sebességgel mozgó színes sávokat látott.

A módszer elnevezése is hozzá kötődik. A kromatográfia a görög χρώμα: **kroma**, 'szín' és γραφειν: **grafein** 'írni' szavak összetétele.

2.1.2. *Célja*

A módszert két alapvető célra használjuk:

analitikai (mennyiségi elemzési módszer) vagy

preparatív (tisztítási módszer).

A preparatív kromatográfia esetében az elválasztott vegyületek további feldolgozása a végső cél, azaz tisztítási műveletről beszélhetünk. Az analitikai kromatográfia általában kisebb anyagmennyiségekkel dolgozik, és célja az analát relatív arányának meghatározása a keverékben.

2.1.3. *Típusai*

A kromatográfiában általában valamilyen fluidum van mozgásban egy másik, rendszerint helyhez kötött fázishoz képest. Ennek alapján beszélhetünk:

- **mozgófázisról (eluens)** (lehet gáz, folyadék, vagy szuperkritikus folyadék) és
- **állófázisról** (lehet szilárd, vagy folyékony – az eluenssel nem elegyedő).

Mozgófázis típusa szerint

- Gáz kromatográfia (Gas Chromatography GC).
- Folyadék kromatográfia (Liquid Chromatography LC).
- Szuperkritikus fluidum kromatográfia (Supercritical Fluid Chromatography SFC).

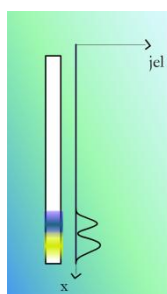
Alak szerint

- Oszlopkromatográfia (egy csőben – „kolonnában” – van rögzítve az állófázis).
- Planáris kromatográfia (egy sík lapon van rögzítve az állófázis, pl.: VRK, lásd 2.1.10.4. ábra).

2.1.4. Az elválasztás alapja

Az oszlopkromatográfias eljárásoknál (GC, LC) a minta beinjektálása után:

- a dugószerűen (négyszögimpulzusként) beinjektált minta az oszlopra érkeve egy rövid szakaszt (sávot) foglal el.
- A mozgó fluidum („eluens”) hatására ez a sáv lassan végigvándorol az oszlopon. Ha az oszlop átlátszó, és az elválasztandó anyagok színesek, akkor meglepő dolgot látunk:
 - előrehaladás közben a sáv több, különböző színű sávra válik szét. Más szóval a **különböző színű anyagok nem egyforma sebességgel mozognak**.



2.1.3.1. mozgó ábra. Elválasztás oszlopon

Tegyük fel, hogy az eluens áramlási sebessége időben és térben (az oszlop hossza mentén) állandó. Akkor valamennyi színes komponens **egyenletes** sebességgel halad végig az oszlopon, de a sebességük **nem egyforma**.

Ugyanis a színes anyagok (a minta összetevői) az álló fázison – valamilyen megoszlási jelenség, pl. adszorpció, vagy gáz-folyadék megoszlás miatt – **részlegesen megkötődnek**. A részleges megkötődésen azt értjük, hogy adott pillanatban egy adott molekulafajtából a molekulák egy része, pl. 80%-a – a szilárd állófázison van **adszorbeálva** vagy a folyékony állófázisban van **abszorbeálva**.

Így a színes sávok **lineáris haladási sebessége kisebb, mint az eluensé**. (Az eluens haladási sebességének mérése nem triviális feladat, de megoldható.)

Megjegyzés: az itt leírtak a kromatográfia néhány speciális verziójánál nem igazak (pl. méretkizárásos kromatográfia – 2.3.7. szakasz – és nemlineáris kromatográfia – 2.1.5. szakasz).

2.1.5. A megoszlási hányados

$$K_i = \frac{c_{s_i}}{c_{m_i}}$$

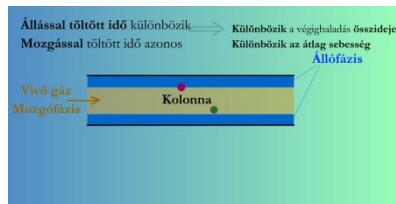
Ahol: K_i : az i -dik komponens megoszlási hányadosa,

c_{s_i} : az i -dik komponens állófázison adszorbeálódott (vagy az álló folyadékfázisban oldódott) koncentrációja,

c_{m_i} : az i -dik komponens koncentrációja a mozgófázisban.

A két koncentráció értéke változó lehet az i -edik komponens zónájában (többnyire az oszlop hossz tengelye irányában Gauss-görbe szerinti eloszlást mutatnak), de a két koncentráció hányadosa, vagyis a **megoszlási hányados mindenütt ugyanakkora** (csak lineáris kromatográfia esetén, erről ld. 2.1.5. szakasz).

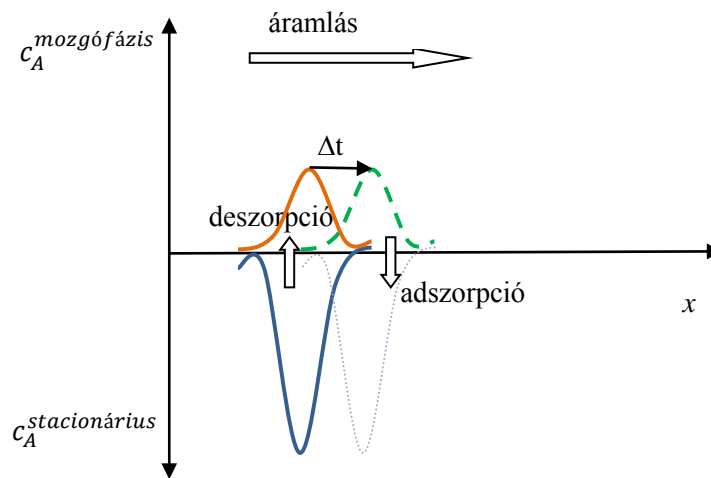
A zónák haladási sebessége a megoszlási hányadostól függ. Ennek oka az, hogy a megoszlás következtében az állófázishoz éppen kötődő molekulák áramlási sebessége nulla.



2.1.5.1. mozgó ábra. Gázkromatográfás elválasztás

A minta komponenseinek átlagos sebessége (v_i)

A kötött és a nem kötött hányad között dinamikus egyensúly van.



2.1.5.2. Dinamikus koncentráció egyensúly
(x : távolság a kolonnán az injektálási ponttól
 Δt : kis idő elteltével)

- A mozgófázisban haladó analát a **mozgófázis sebességével halad**, jelöljük ezt u -val.
- Az **állófázison kötött** analát sebessége pedig éppen nulla (0).

Az **analát átlagos sebessége** (v), tehát attól függ, hogy hány %-ban van az állófázishoz kötve, illetve milyen arányban mozog a mozgófázissal. Az analát átlagos sebességét így írhatjuk le:

$$v = (\text{állófázisban lévő hányad}) * 0 + (\text{mozgófázisban lévő hányad}) * u$$

Tehát mindig igaz, hogy $v \leq u$!

$$v = \frac{n_s}{n_s + n_m} * 0 + \frac{n_m}{n_s + n_m} * u = \frac{n_m}{n_s + n_m} * u$$

Ahol: n_s : állófázisban lévő mennyiség
 n_m : mozgófázisban lévő mennyiség

Probléma: a lokális koncentrációk helyről helyre változnak, ezért infinitézimálisan rövid oszlop-szakaszra írjuk fel az egyenletet:

$$v = \frac{\Delta n_s}{\Delta n_s + \Delta n_m} * 0 + \frac{\Delta n_m}{\Delta n_s + \Delta n_m} * u = \frac{\Delta n_m}{\Delta n_s + \Delta n_m} * u$$

$$v = \frac{1}{\frac{\Delta n_s}{\Delta n_m} + \frac{\Delta n_m}{\Delta n_m}} * u = \frac{1}{\frac{\Delta n_s}{\Delta n_m} + 1} * u$$

$$\text{mivel } \frac{\Delta n_s}{\Delta n_m} = \frac{c_s}{c_m} \frac{\Delta V_s}{\Delta V_m} = K \frac{\Delta V_s}{\Delta V_m} = K \frac{V_s}{V_m}$$

$\frac{V_s}{V_m}$: a két fázis térfogataránya,
mely a mintától független kolonna jellemző
(a szakirodalom gyakran a $\frac{V_m}{V_s}$ hányadost hívja fázisaránynak),

$$\text{ezért } v_i = \frac{1}{K_i \frac{V_s}{V_m} + 1} * u$$

(Figyeljük meg, hogy a helyfüggés kiesett.)

K_i megoszlási hányados értékének meghatározása

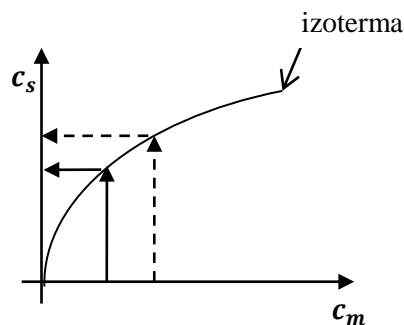
K_i értékét úgy mérhetjük meg, hogy egy termosztált edényben:

1. ismert mennyiségű állófázist, eluenst és analátot összerázunk,
2. megvárjuk az egyensúly beállítását,
3. majd meghatározzuk az analát koncentrációját az eluensben: c_m .
4. Ebből az anyagmérleg alapján már megkapjuk az állófázison is az analát koncentrációját: c_s .

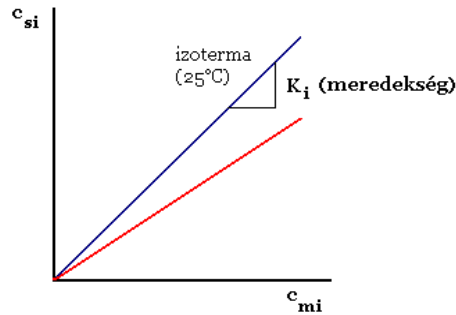
(Utóbbi tulajdonképp látszólagos koncentráció, mert a megkötött analátmolek számát a szorbens tömegére vagy térfogatra vonatkoztatjuk, akkor is, ha a kötődés csak a felületen történik.)

Különböző analátmennyiségekkel elvégezve a mérést, több összetartozó c_m ; c_s adatpárt kapunk. Ezeket ábrázolva megkapjuk a mérés hőmérsékletén **az analát adszorpciós izotermáját** az álló fázis és az eluens között.

Egyensúlyi megoszlás:



2.1.5.3. ábra. Nem lineáris kromatográfiában az izoterma nem lineáris



2.1.5.4. ábra. *Lineáris kromatográfiában az izoterma lineáris*

Az egyenes egyenlete:

$$c_s = K \cdot c_m$$

$$K = \frac{c_s}{c_m}$$

Ahol: K a megoszlási hányados (függ: a szilárd anyagtól, az eluenstől és természetesen a megoszló anyagtól: az ábrán látható két egyenes két különböző mintakomponens izotermája ugyanazon az eluens-állófázis páron).

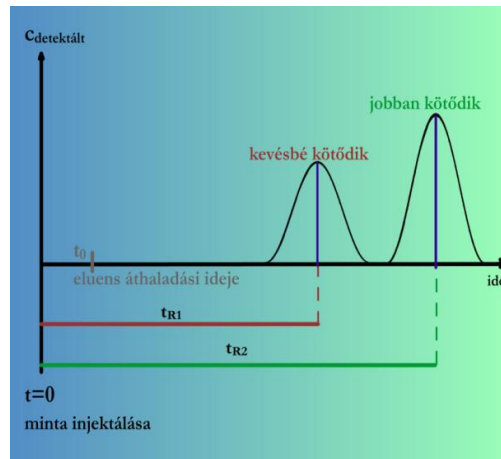
Az analít átlagos haladási sebességére fentebb levezetett képlet csak a lineáris kromatográfiában érvényes, mert a levezetésben a megoszlási hányadost a koncentrációtól függetlennek tekintettük.

Megoszlás számítási feladat			
Az állófázis térfogata (V ₁):	1	ml	
A mozgófázis térfogata (V ₂):	2	ml	
	A	B	
	komponens	komponens	
Összes mennyisége:	1	7	nmol
Megoszlási hányadosa:	3	5	
Számold ki a mennyiségeket a különböző fázisokban, majd ellenőrizd le! Próbálgass különböző értékekkel!			
Eredmény:			Ellenőrzés
Az állófázisban (n ₁):	nmol	nmol	
A mozgófázisban (n ₂):	nmol	nmol	

2.1.5.5. mozgó ábra. *Megoszlás számítási feladat*

2.1.6. A kromatogram

Kromatogram: regisztrált detektorjel az idő függvényében.



2.1.6.1. ábra. Detektorjel az idő függvényében.

A jel általában egyenesen arányos a detektált pillanatnyi koncentrációval.
Az ábrán bemutatott kromatogram: regisztrált koncentráció az idő függvényében

- t_{R_i} a csúcs súlypontjához tartozó idő,
- Ami Gauss görbe esetén a csúcsmaximum helye.

Retenciós idő

t_0 : eluens retenciós ideje

- Az **eluensnek az oszlopon való áthaladási ideje**, illetve bármely komponensnek a mozgással töltött ideje

$$u = \frac{L}{t_0} \rightarrow t_0 = \frac{L}{u}$$

Ahol: L : a kolonna hossza,
 u : az eluens sebessége.

t_{R_i} : az i-edik anyag retenciós ideje:

- **egy fajta molekula tartózkodási ideje az oszlopban** = állás ideje + haladás ideje,
- Megegyezik a csúcsmaximum regisztrálásának idejével ha a csúcs szimmetrikus

$$t_{R_i} = \frac{L}{v_i}$$

t_{s_i} : redukált retenciós idő

A **komponens állóideje** (t_{s_i}) = a teljes átjutás ideje (t_{R_i}) – a haladási idő (t_0).

$$t_{s_i} = t_{R_i} - t_0$$

k_i : retenciós tényező

$$k_i = K_i \frac{V_s}{V_m}$$

$$t_{R_i} = \frac{L}{v_i} = \frac{L}{u} \left(K_i \frac{V_s}{V_m} + 1 \right) = t_0 \left(K_i \frac{V_s}{V_m} + 1 \right) = t_0 (k_i + 1) = t_{s_i} + t_0$$

Retenció térfogát

\dot{V} : térfogat áram = keresztmetszet · sebesség

V_{R_i} : retenció térfogát: t_{R_i} idő alatt az oszlopon átfolyó eluens térfogata $V_{R_i} = \dot{V}t_{R_i}$.

V_m eluens térfogata az oszlopban: t_0 idő alatt $V_m = \dot{V}t_0$.

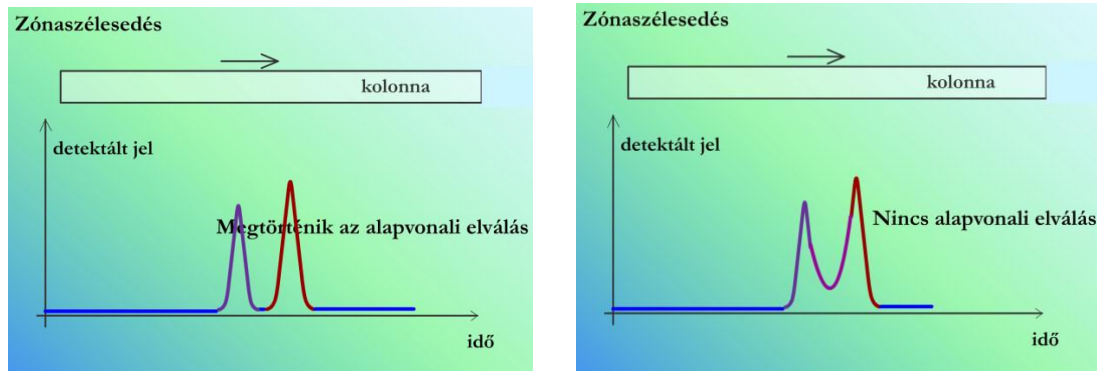
$$V_{R_i} = \dot{V}t_{R_i} = \dot{V}t_0 \left(K_i \frac{V_s}{V_m} + 1 \right) = K_i V_s + V_m$$

Ha két komponens megoszlási hányadosa közel van egymáshoz, pl. 9 és 10, ez már jelentős tartózkodási idő, illetve retenció térfogát különbséget jelenthet.

2.1.7. Zónaszélesedés

A **minta bevitele egy keskeny zónában történik**, azonban a kolonna végén az egyes komponensek zónájának szélessége nagyobb, mint a mintabevitelnél volt.

Az alábbi ábra mutatja, hogy az **oszlopon előre haladva** hogyan **szélesednek a csúcsok** és hogyan **javul mégis az elválasztás**.

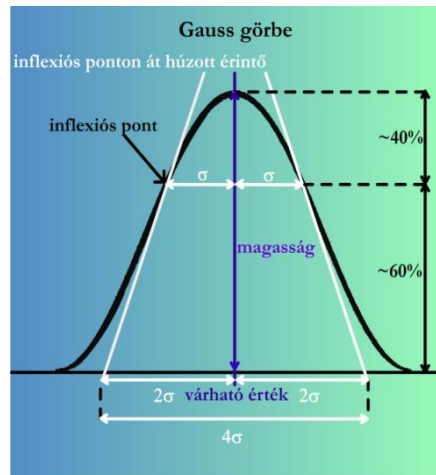


2.1.7.1. mozgó ábra. Zónaszélesedés, megtörténik-e az alapvonal elválás

A mennyiségi információt a csúcs lokális magassága hordozza, így **ha két komponens görbéje átfedi egymást, akkor ott jelként a két komponens jelének összegét detektáljuk**. Vannak ugyan különböző trükkök (például a félgörbe tükrözése), amelyek segítségével közelítő számolást végezhetünk, de a két komponens elválasztása végül is nem történik meg. Mi okozza a zónaszélesedést? Mi kell ahhoz, hogy két komponens sávja teljesen elváljon egymástól, mire az oszlop végére érnek? Az alábbiakban ezekre a kérdésekre keressük a választ.

A csúcsok alakját közelíthetjük a Gauss-görbével

- A görbe magasságának körülbelül 60%-nál van az úgy nevezett **csúcshélesség**, amely a görbe két inflexió pontját összekötő szakasz hossza.
- A **csúcshélesség** fele a σ (szórás).
- Az inflexió pontokba húzott érintők az alapvonalból éppen 4σ hosszúságú szakaszt metszenek ki. (Más jelöléssel: $4\sigma=W$.)



2.1.7.2. ábra. A Gauss-görbe tulajdonságai

A görbének 4 fontos adata van:

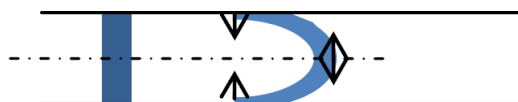
- a várható értéke (a hosszúság vagy idő tengelyen hol helyezkedik el a koncentráció maximum),
- a magassága,
- a területe
- és a szórása (fél csúcshélessége).

Az utolsó 3 adat nem független egymástól. A 4σ tartományba esik a csúcs területének 95%-a.

Megjegyzendő, hogy a kromatogram nem mindig Gauss görbe alakú. Tehát a kromatográfiában csak jó közelítéssel használhatjuk az összefüggéseit, melyek alkalmazhatóságát ellenőrizni kell.

Zónák szélesedésének főbb okai

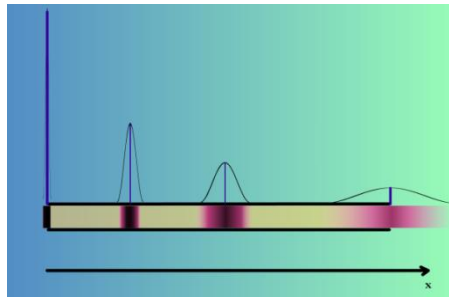
- Hosszirányú diffúzió az oszlopban (pl. gázkromatográfiás kapillárisban).
- Nem egyforma utakat járnak be az egyes molekulák a töltet szemcséi között.
- Az áramlási sebesség nem egyenletes (szemcsék között szűkület, bővület).
- Lamináris diszperzió (parabolikus áramlási sebesség-profil):



2.1.7.3. ábra

- óriási koncentráció gradiensek: be-, illetve kifelé diffúzió,
- van szétkenődés, de sokkal kisebb, mintha az a radiális diffúzió nélkül lenne.
- A szorpció és a deszorpció sebessége nem végtelen nagy.

Zónaszélesedés leírása



2.1.7.4. ábra. A zóna a csúcs előrehaladásával szélesedik

A csúcsnak az előrehaladás közbeni szélesedését az alábbi egyenlet írja le:

$$\sigma_x^2 = Hx \rightarrow \sigma_x = \sqrt{Hx}$$

Ahol: σ_x : a Gauss-görbe „szórás” paramétere,
 x : a csúcs által az oszlopban megtett út hossza,
 H : arányossági tényező,

- egy helytől (x),
 - és komponenstől (i),
 - de a mozgófázis sebességétől (u_0),
 - az adszorbens szemcseátmérőjétől (d_p),
 - és további paraméterektől
- } független (jó közelítéssel)
- } függő.

H dimenziója hosszúság, elnevezése: elméleti tányérmagasság (HETP: height equivalent of a theoretical plate).

A megadott képlettel kiszámítható a csúcsok szélessége az oszlop végének elérésekor ($x = L$ helyettesítéssel, ahol L az oszlop hossza).

$$\sigma_L^2 = HL \rightarrow \sigma_L = \sqrt{HL}$$

Az oszlop elméleti tányérszáma

Az elméleti tányérmagasság elnevezésnek megfelelően az L hosszúságú oszlop tányérszáma (N):

$$N = \frac{L}{H}$$

Itt nem valódi tányérokrol van szó, mint a desztillációs oszlopokon. Az elnevezések analógiákon alapszanak.

Eddig arról beszéltünk, hogy az oszlop vége felé milyen hosszan nyúlik el a sáv (a csúcs). Kromatográfiában viszont általában nem hely, hanem **idő szerinti regisztrátumot mérnek**. A detektorjel a pillanatnyi kilépő koncentrációt jelzi. Az időbeli regisztrátumon is Gauss-görbe alakú csúcsokat látunk, amelyeknek a szélességét a σ_t szélességi paraméterrel jellemezzük.

Számítási feladat

Eluens áramlási sebessége (u): 10 cm/min
 Az oszlop hossza (L): 20 cm
 A sávok szélessége az oszlop végén: 1 cm

	piros komponens	zöld komponens
Mozgófázisban:	20 %	10 %
Állófázisban:	80 %	90 %

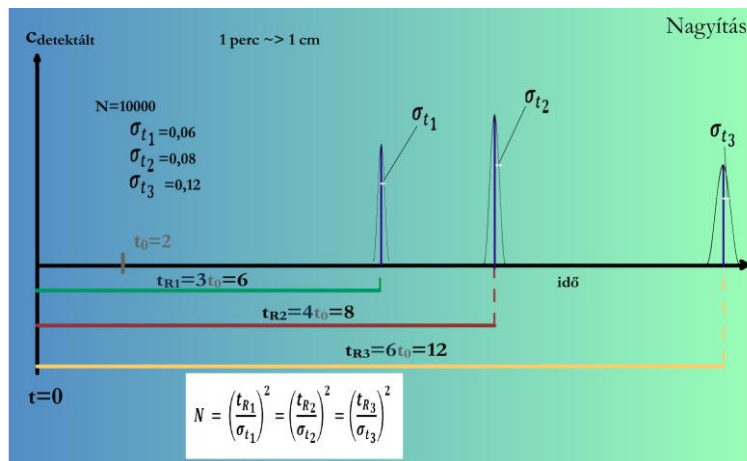
Számold ki a hiányzó mennyiségeket, majd ellenőrizd le! Próbálgass különböző értékekkel!

Ellenőrzés

Akkor	piros komponens	zöld komponens
átlagos sebessége (v _i):	cm/min	cm/min
végigjutási ideje (t _{Ri}):	min	min
a regisztrált jel:	min	min

A piros 80 %-a az állófázison van, és ezért 0 a sebessége:
 $v_p = 0,8 \cdot 0 + 0,2 \cdot u = 0,2 \cdot u$
 A zöld összetevő megoszlása a két fázis közt 90% (állófázis), illetve 10% (mozgófázis) így ennek a sávnak a sebessége:
 $v_z = 0,9 \cdot 0 + 0,1 \cdot u = 0,1 \cdot u$
 Az eluens molekulái 2 perc alatt haladnak végig az oszlopon (hossza: L = 20 cm), akkor az eluens sebessége
 $u = 10 \text{ cm/perc}$
 $v_p = 0,2 \cdot 10 = 2 \text{ cm/perc}$, és
 $t_{Rp} = 20/2 = 10 \text{ perc}$
 $v_z = 0,1 \cdot 10 = 1 \text{ cm/perc}$,
 $t_{Rz} = 20 \text{ perc}$
 A detektoron a piros sáv $1 \text{ cm} / (2 \text{ cm/perc}) = 0,5 \text{ perc}$, a zöld áthaladása pedig 1 perc.

2.1.7.5. mozgó ábra. Számítási feladat



2.1.7.6. mozgó ábra. Az elméleti tányérszám bemutatása kromatogramon

$$\frac{\sigma_L}{v_i} = \sigma_t$$

$$v_i = \frac{L}{t_{Ri}} = \frac{\sigma_L}{\sigma_{t_i}}$$

$$\sigma_L = \frac{L}{t_{Ri}} \cdot \sigma_{t_i}$$

Mivel: $\sigma_L^2 = HL$
 ezért:
 $\frac{L^2}{t_{Ri}^2} \sigma_{t_i}^2 = HL$
 $N = \frac{L}{H} = \frac{t_{Ri}^2}{\sigma_{t_i}^2}$
 $N = \left(\frac{t_{R1}}{\sigma_{t1}}\right)^2 = \left(\frac{t_{R2}}{\sigma_{t2}}\right)^2 = \left(\frac{t_{R3}}{\sigma_{t3}}\right)^2$

E képlet alapján a kromatogramról leolvasható a tányérszám. A különböző analátok csúcaiból számolt N körülbelül egyforma a modell szerint.

A csúcskiszélesedés tipikus mértéke az egyes kromatográfiai módszereknél nem egyforma.

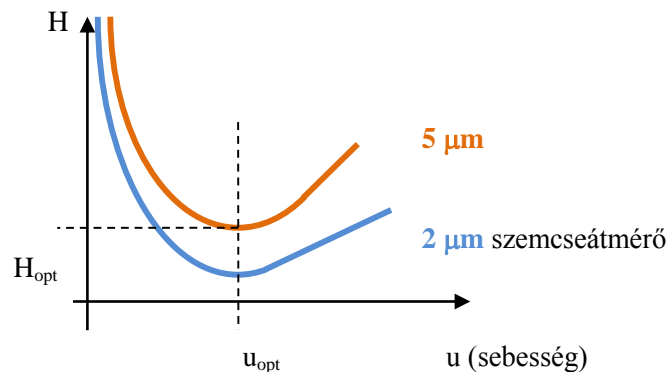
		pl. t _R = 10 perc esetén σ _t értéke
a GC-ben	N = 10 ⁵	kb. 1/30 perc
a HPLC-ben	N = 10 ⁴	1/10 perc

Az oszlopon bekövetkező csúcskiszélesedés úgy is interpretálható, hogy adott anyagnak az oszlop elején egyszerre induló molekulái nem egyszerre érnek az oszlop végére, tehát nem mindegyik halad az adott molekulafajtára jellemző átlagsebességgel. A sebesség (és így a tartózkodási idő) diszperziója a csúcskiszélesedés másik értelmezése.

Olvasmány (van Deemter összefüggés)

Kisebb H -hoz \rightarrow kisebb σ és nagyobb N tartozik adott L esetén.

H értéke erősen függ az eluens lineáris áramlási sebességétől ($u=L/t_0$).



2.1.7.7. ábra. van Deemter-összefüggés

\rightarrow Van olyan áramlási sebesség, hogy adott szemcseméret mellett a szélesedés a legkisebb legyen,

\rightarrow de t_{Ri} lehet, hogy túl nagy az u_{opt} -nál.

Mivel kis szemcseméretnél lankásabb a minimum \rightarrow lehet növelni u -t, mert nem lesz jelentős H növekedés \rightarrow gyorsabb elválasztás.

2.1.8. Felbontás

A kromatográfia fontos kérdése, hogyan lehet két hasonló anyagot – lehetőleg rövid idő alatt – egymástól jól elválasztani. A hasonló anyagok megoszlási hányadosa adott rendszerben gyakran igen közel van egymáshoz, ezért nagyon hatékony elválasztásra lehet szükség. (Fontos azonban megemlíteni, mert gyakran hajlamos az ember megfeledkezni róla, hogy viszonylag különböző anyagoknak véletlenszerűen nagyon közeli megoszlási hányadosa lehet, és így a retenciós idejük lehet gyakorlatilag azonos. Ezért a retenciós idő alapján történő azonosítással nagyon óvatosan kell bánni.)

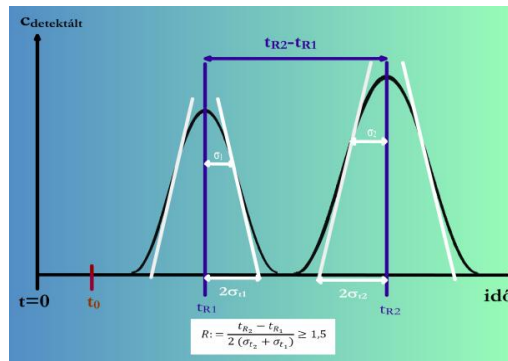
Vajon elválnak-e a hasonló tulajdonságú (hasonló K értékű) anyagok csúcsai?

Miért fontos ez a kérdés:

- mennyiségi elemzés: a csúcs területek alapján történik,
- a detektor összeadja a jeleket, ezért ha a Gauss-görbék metszik egymást, nem tudjuk egyenként mérni a komponensek mennyiségét (területét).

A felbontás definíciója

Megtörtént-e az alapvonal elválás, megfelelő-e a szelektivitás, azaz használható-e az adott mérési eljárás a mérendő komponensek elválasztására?



2.1.8.1. ábra. A felbontás grafikus értelmezése

$$\text{Felbontás: } R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{2(\sigma_{t2} + \sigma_{t1})}$$

- Ha $R = 1$, a két görbe még átlapol.
- Elfogadható (azaz gyakorlatilag az alapvonalig menő) a felbontás, ha $R \geq 1,5$ (legalábbis ha egyforma magasságúak a görbék).

Az R jelölés magyarázata: Resolution.

Az elválasztás tervezésére alkalmas képlet R-re

Az R-et definiáló képlet nem alkalmas az elválasztás megtervezésére, mert nem azok a mennyiségek szerepelnek benne, amelyeket közvetlenül változtatni tudunk, mint például az oszlop geometriai méretei, a töltet tulajdonságai, a térfogatáram, az eluens összetétele, stb. Ezért R képletét úgy alakítjuk át, hogy benne jobban kezelhető mennyiségek szerepeljenek.

A képlet levezetése:

$$\begin{aligned} R &= \frac{t_{R2} - t_{R1}}{2(\sigma_{t2} + \sigma_{t1})} = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{2\left(\frac{t_{R2}}{\sqrt{N}} + \frac{t_{R1}}{\sqrt{N}}\right)} = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{t_0(k_2 + 1) - t_0(k_1 + 1)}{t_0(k_2 + 1) + t_0(k_1 + 1)} = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{k_2 - k_1}{k_2 + k_1 + 2} \\ &= \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{k_2 - k_1}{k_2 + k_1} \cdot \frac{k_2 + k_1}{k_2 + k_1 + 2} = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{\frac{k_2}{k_1} - 1}{\frac{k_2}{k_1} + 1} \cdot \frac{\frac{k_2 + k_1}{2}}{\frac{k_2 + k_1}{2} + 1} = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha + 1} \cdot \frac{\bar{k}}{\bar{k} + 1} \end{aligned}$$

Tehát R pontos képlete:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha + 1} \cdot \frac{\bar{k}}{\bar{k} + 1}$$

Ahol:

$$\begin{aligned} \alpha &= \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_2 \frac{V_s}{V_m}}{K_1 \frac{V_s}{V_m}} = \frac{K_2}{K_1} > 1 \\ \bar{k} &= \frac{k_1 + k_2}{2} \end{aligned}$$

Közelítő képlet:

Ha a két elválasztandó komponens k értékei csak kicsit különböznek, akkor α , az u.n. szelektivitási tényező, közel van 1-hez, ezért

$$R \cong \frac{\sqrt{N}}{4} (\alpha - 1) \frac{\bar{k}}{\bar{k} + 1}$$

Másrészt mivel ilyenkor α közel van 1-hez, ezért ha picit változtatom az α -t \rightarrow akkor R nagyon változik.

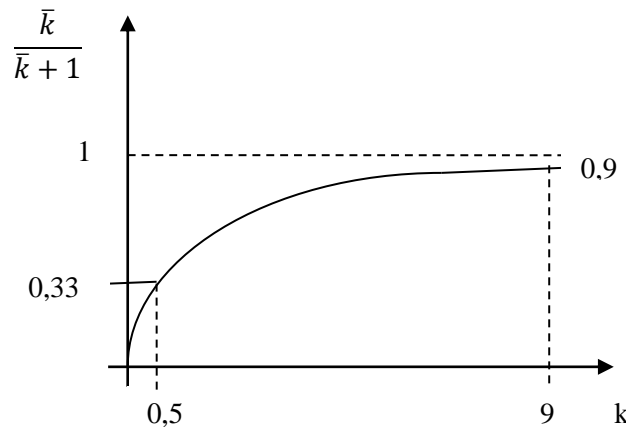
- Tipikus HPLC-s körülmények között N értéke kb. 10000.
- Legyen a $k/(k + 1)$ tag értéke kb. 0,5 (e választást rövidesen megmagyarázzuk).
- Akkor $R=1,5$ -hez $\alpha = 1,12$ tartozik.

Ez azt jelenti, hogy tipikus rutin HPLC-s körülmények között két analát megoszlási hányadosa közt elég 12% különbség ahhoz, hogy alapvonalú elválasztást érjünk el, vagyis hogy a két analát teljesen elváljon egymástól (és ha akarjuk, akár külön edényben, külön frakcióként foghatjuk fel őket). Ez mutatja a kromatográfia nagy teljesítőképességét, hiszen hasonlóan jó elválasztási eredményhez – például folyadék-folyadék extrakciós elválasztás esetén – a két anyag megoszlási hányadosainak több nagyságrenddel kellene különbözniük egymástól.

A levezetett képletben szereplő változók jól egyesítik magukban a kísérletező által változtatható paramétereket:

α függ:	N függ:
<ul style="list-style-type: none"> • hőmérséklettől, • pH-tól, • oldószertől, • állófázistól. 	<ul style="list-style-type: none"> • szemcsemérettől, • oszlop hosszától, • áramlási sebességtől, • hogyan van megtöltve.

Az k -t tartalmazó tag k -tól való függését a következő ábra mutatja:



2.1.8.2. ábra

- Elviekben: $0 < k < \infty$ értékű lehetne, de
 - a gyakorlatban: $0 < k < 20$ közötti értékű praktikus szempontok miatt,
 - azonban ha k kicsi, akkor nagyon lecsökkenti a felbontás értékét, ezért **$2 < k < 20$ legyen**
- $\rightarrow t_0$ közelében ne legyen csúcs, az első csúcs legalább 2–3 t_0 -nál legyen.

2.1.9. Kromatográfiai mérést befolyásoló főbb paraméterek összefoglalása

- állófázis térfogata (V_s),
- mozgófázis térfogata (V_m),
- kolonna hossza (L),
- mozgófázis térfogatárama (\dot{V}),
- mérendő komponensek megoszlási hányadosai (K_i),
- mozgófázis összetétele,
- töltet anyagi minősége, szemcsemérete illetve filmvastagsága,
- hőmérséklet (T).

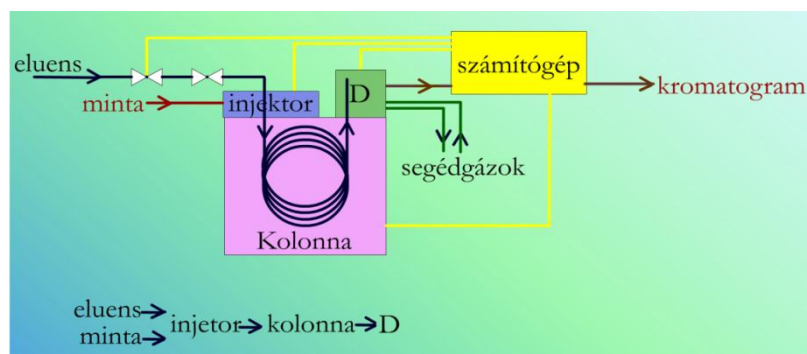
Az eddig elmondottakon túl még figyelembe kell venni, hogy a sávok az **oszlop előtti és utáni csövekben**, a **mintaadagolóban** (injektor) és a **detektorban** is szélesednek. Ennek okait itt nem magyarázzuk részletesen, azonban példaként említhető a parabolikus áramlási profil hatása az összekötő csövekben és a visszakeveredés az esetleg túl nagy térfogatú detektorban. Az egyes csúcskiszélesítő hatások általában összegeződnek: a regisztrált Gauss-görbe szélesebb, mintha csak az adott oszlopon történne kiszélesedés. (Az összegeződés az egyes σ értékek négyzeteinek additivitását jelenti.) Egyes modern kromatográfiai oszlopok esetében az oszlopon kívüli csúcskiszélesedés már jelentősebb, mint az oszlopon bekövetkező.

2.1.10. Példák a kromatográfiai rendszerben gyakran használt elrendezésekre

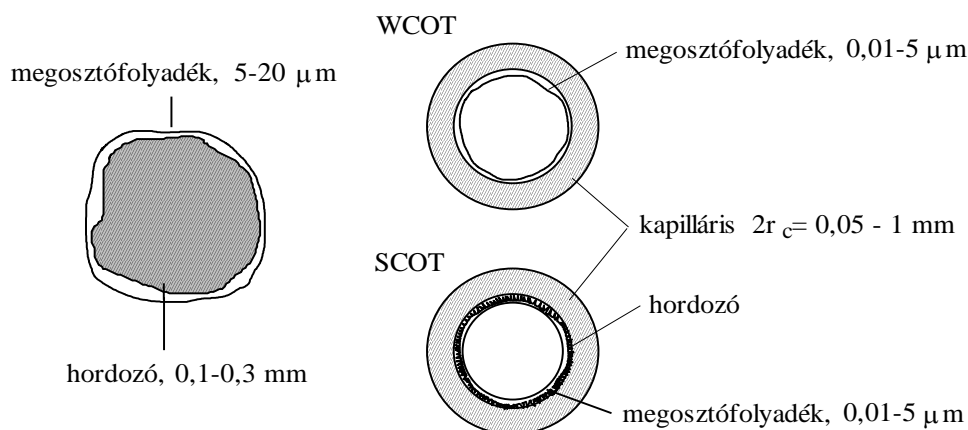
Az alábbi ábrák néhány gyakran alkalmazott kromatográfiai rendszert mutatnak be.

Kapilláris gázkromatográfiai elrendezés (kapilláris GC)

Gáz halmazállapotú eluens áramlik egy néhány tízed mm belső átmérőjű kvarckapillárisban, amelynek belső felülete pár μm vastag, nem illékony folyadékfilmmel van bevonva. (A folyadékfilm nem sodródik ki.) A gáz áramlási sebessége 0,5–3 ml/perc.



2.1.10.1. ábra. A gázkromatográfiai készülékek általános felépítése.
A kolonna termosztálva van. D: detektor



2.1.10.2. ábra. Gázkromatográfias állófázisok a gáz-folyadék megoszlásos gázkromatográfiában.

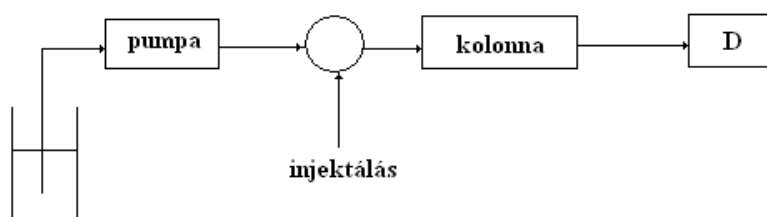
Bal oldalon: egy töltött oszlop töltetéből egyetlen szemcse.

Jobb oldalt felül: a fenti példában leírt rendszer,
(WCOT: wall coated open tubular column).

Jobb oldalt alul: az előbbihez hasonló, de a megosztófolyadék hordozóra felvitt formában (SCOT: support coated open tubular column)

Egy folyadékkromatográfias elrendezés (HPLC)

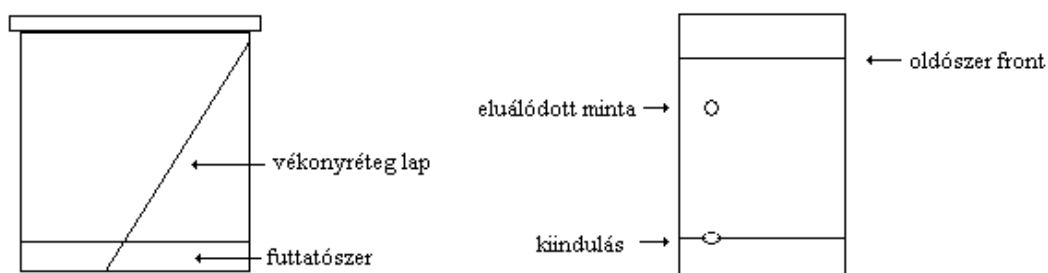
Oldószer áramlik egy 20 cm hosszú, 4 mm belsőátmérőjű acélcsőben, amely 5 μm szemcseátmérőjű porral van megtöltve. A porszemcsék porózusak, a pórusok átmérője 10 nanométer körüli, a fajlagos felület több száz m²/gramm. A 20 cm hosszú oszlopon 1 cm³/perc térfogatáram fenntartásához körülbelül 150 bar nyomás kell a szemcsék apró mérete miatt.



2.1.10.3. ábra. Folyadékkromatográfias rendszer sematikus felépítése

Vékonyréteg kromatográfias elrendezés (VRK)

Üveglapon vagy valamilyen fólián a második példában említett típusú szemcsékből megfelelő kötőanyaggal kb. 1 mm vastag síkréteg van kialakítva. A lapot egyik élével oldószerkegybe állítjuk zárt üvegedényben. Az oldószer a kapilláris erő miatt lassan szivódik felfele a szemcsék között és a pórusokban.

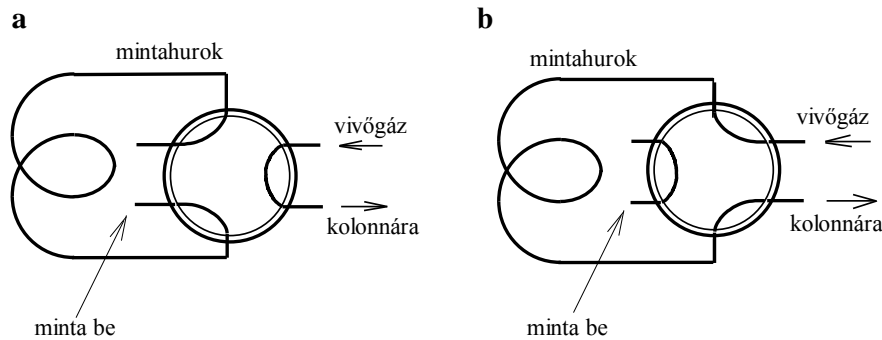


2.1.10.4. ábra. Vékonyréteggkromatográfias lap, illetve a mérés után kapott eredmény

Az ábra bal oldalán a futtató kád látható. Adott ideig futtatják a kromatogramot, majd kiveszik a lapot és megnézik hol található a minta (VRK-lap az ábra jobb oldalán).

A vékonyréteg kromatográfia maga is folyadékkromatográfias eljárás, de nem az ún. oszlopkromatográfias módszer.

2.1.11. Mintaadagolás



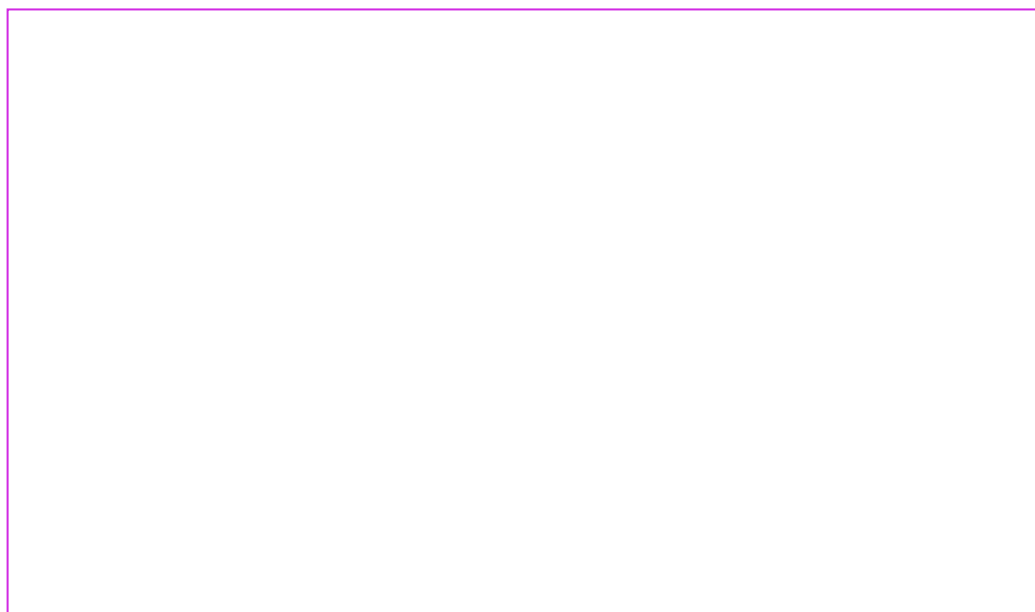
2.1.11.1. ábra. Hatágú bemérő csap működési vázlata
a) a mintatérfogót bemérése, b) bevitel a gázkromatográfba

A minta – amely mindig több komponensű elegy – lehet gáz halmazállapotú (csak a GC-ben), vagy folyadék.

A mintából általában csak egy **kis mennyiséget juttatunk** – négyszögimpulzusként, más szóval dugószerűen – **az áramló fluidumba**.

- A GC esetében ezt többnyire az oszlop előtti fűtött térbe fecskendezéssel tesszük (a fűtés lehetővé teszi illékony folyadékminta beinjektálását és azonnali elpárologtatását, tehát nem csak gázminták elemezhetők).
- Az LC-ben speciális bemérő csapot használunk, amit injektornak nevezünk. Ilyen szerkezet a gázkromatográfiában is alkalmazható, ld. ábra.)
- A VRK-ban a még száraz lapra a beáztatandó végétől 1–2 cm-re felcseppentjük a mintát, és hagyjuk megszáradni, aztán állítjuk a lap élét a folyadékba, úgy hogy a folyadék a bemártáskor ne érje el a minta foltját.

VIDEÓ



2.1.11.1. videó: Automatikus folyadékminta-injektálás a HPLC-ben

Olvasmány: Mintabevitel a gázkromatográfiában

A gázkromatográfiában a minta ritkán szokott gáz halmazállapotú lenni. Sokkal gyakoribb, hogy a beinjektálásra kerülő minta viszonylag alacsony forráspontú oldószerben készült oldat. Az oldatminták gázkromatográfba injektálására legtöbbször fémtűvel ellátott üvegfecskendőket használnak. A tűvel átszúrnak egy (speciális) gumi tömitést (a szeptumot), és ezután spriccelik be az oldatot az ún. injektortérbe. Mivel a gázkromatográfiában a mérendő minta is gázként halad át az oszlopon, a beinjektált folyadékmintát el kell párologtatni, mielőtt elindulna az elválasztásra használt oszlopon. Mindez egyszerűen hangzik, a gyakorlatban azonban rengeteg nehézséggel járhat. Ezért a gázkromatográfiában sokféle mintabeviteli egységet használnak, melyeket sokféleképpen lehet üzemeltetni. A megfelelő megoldás kiválasztása az analitikus feladata. Ezen a helyen nem célunk az egyes lehetőségek részletes bemutatása, csak a nehézségek okaira kívánunk rámutatni, és arra, hogy milyen érdekes vegyész-mérnöki problémákat vet fel a mintabeadólagolás.

A fő problémák és lehetséges megoldásaik

A beinjektált oldatminta térfogata az elpárologtatás következtében több százszorosára nő. Számoljunk utána: 1 mikroliter (azaz kb. 1 mg) $M = 100$ móltömegű folyadék kb. 10^{-5} mol. Ezt szobahőfokon és 1 bar nyomáson elpárologtatva kb. 240 mikroliter gőz keletkezik. Vessük ezt össze egy 0,2 mm belső átmérőjű és 30 m hosszú kapillaris kolonna belső térfogatával, ami 942 mikroliter. Tehát a minta térfogata körülbelül negyede lenne az oszlopban elférő mozgó fázis térfogatának, amely nem tekinthető keskeny zónában való beadagolásnak. Kapillaris oszlopoknál ezért kezdetben az a megoldás terjedt el, hogy az elpárologtatott mintának csak kb. 1%-át engedték az oszlopra, a többit egy oldalnyíláson kiengedték. Ez a „split” technika lényege. (Elvben lehetne csak 0,01 mikrolitert injektálni, de ez túl nehézkes lenne.) A split hátránya, hogy a minta nagy része elvész. Ha kis koncentrációjú komponenseket is kell mérni, ez nem megengedhető. De ha a mérendő anyagok koncentrációja kicsi, akkor az 1 mikroliter minta legnagyobb része oldószer, amit nem is akarunk mérni. Ezért több olyan megoldást is kidolgoztak, amely lehetővé teszi, hogy az oldószergőzt kiengedjük a mintaadólagból és csak a mérendő anyagok kerüljenek az oszlopra. Ez akkor megy viszonylag könnyen, ha az oldószer forráspontja legalább 150 fokkal alacsonyabb, mint a mérendő anyagoké. Ilyenkor az oldószer például úgy távolítható el, hogy a mintát hideg térbe injektáljuk, majd gázárammal, illetve fokozatos melegítéssel az oldószer egy nyíláson kihajtjuk, végül a nyílás zárása után a mérendő anyagokat további melegítéssel elpárologtatjuk és az oszlopra juttatjuk.

A split technikánál a beinjektált oldatot pillanatszerűen kell elpárologtatni. Ha ugyanis ott is csak lassú elpárologtatás történne, akkor egy állandóan változó összetételű gőzelegynek juttatnánk mindig az 1%-át az oszlopra, ami az eredeti koncentrációarányokat torzíthatná. Az 1 mikroliternyi minta pillanatszerű elpárologtatása viszont nem is egyszerű feladat. Ehhez elég magas hőmérsékletre felfűtött térbe kell bejuttatni a mintát, ahol még a legmagasabb forrtpontú alkotó is azonnal el tud párologni. A magas hőmérséklet viszont egyes komponenseknél hőbomlást okozhat. Ez különösen valószínű, ha a mintaadagoló térben katalitikus felületek vannak. Ezért a fűtött fémházba üveg béléscsövet kell tenni („liner”), amelynek a felületét alkalmas felületkezeléssel dezaktiválni kell. A gyors elpárologtatáshoz nemcsak magas hőmérséklet, hanem elegendő hőkapacitás is kell, hiszen a párolgás sok hőt von el. Azt is meg kell akadályozni, hogy a bespriccelt oldat néhány mikrocseppje elpárolgás nélkül rögtön az oszlopra kerüljön. A két utóbbi szempont miatt az üveg béléscsőbe szokás lazán üveggyapotot tenni, melynek a felületét szintén dezaktiválni kell. Az üveggyapot egyszersmind felfogja a mintamátrixból esetleg keletkező pirolizistermékeket, melyek az oszlopot egyébként elszennyeznék.

A forró térbe injektálás még számos nehézséggel járhat. A gyors elpárolgás az adagolótérben átmeneti jelentős nyomásnövekedést okozhat, ami tranziens jelenségeket eredményezhet. Előfordulhat az is, hogy az elpárologtatáskor keletkező gőz mennyisége több, mint ami a linerbe befér (például túl nagy mintatér fogat injektálása, vagy olyan oldószer használata, amelynél nagyobb a térfogatnövekedés). Ilyenkor a nyomásnövekedés miatt a minta egy része visszavág a vivőgáz bevezető csövébe és elszennyezheti azt, ami a további méréseknél zavarást okoz.

Külön probléma a szeptum viselkedése a forró mintatérben. A szeptumnak lehetőleg sok minta beadagolását ki kell bírnia. Azok a gumik, amelyek még a sokadik beszúrás után is jól zárnak, általában nem jól viselik a magas hőmérsékletet: lassan bomlanak és bomlástermékeik is bejutnak az elválasztó oszlopba. Ezt a jelenséget szeptum bleedingnek hívják.

Az adagoló fecskendő megtöltési módjának is számos verziója van: például a mintát csak a féműbe szívják, vagy a mintát teljesen felszívják az üveg részbe. Ezeknek a megoldásoknak azért van jelentősége, mert a forró térbe csak a tű kerül be. Itt már a tűben elindulhat a párolgás és az esetleges bomlási reakciók (amiket a fémű katalizálhat). A tűben meginduló párolgás a minta egy részének szelektív párolgását okozhatja, vagyis a pára összetétele eltérhet az átlagos összetételtől. Fontos lehet még a fecskendőből való kiadagolás sebessége, az adagolás egyenletessége. Ezért előszeretettel használnak automata mintaadagolókat.

2.1.12. Kérdések és számolási feladatok

Kidolgozott példák

1. Példa

Egy kolonna hossza $L = 100 \text{ mm}$ és az egy méterre jutó elméleti tányérszám 100000. Mekkora lesz a kromatográfiai csúcsok kiszélesedése a kolonna végénél?

$$\frac{N}{L} = 100000 = \frac{1}{H} \rightarrow H = 10^{-5} \text{ m} = 10 \mu\text{m}$$

A csúcscsúszélesedés mértéke a kolonna végén:

$$\sigma_L^2 = H \cdot L = 0,01 \text{ mm} \cdot 100 \text{ mm} = 1 \text{ mm}^2 \rightarrow \sigma_L = 1 \text{ mm}$$

Megjegyzés: a kolonna elméleti tányérszáma is könnyen megkapható az adatokból, $N = 10000$.

2. Példa

Egy kolonna elméleti tányérszáma $N = 10000$. Mekkora az időbeli csúcscsúszélesedés egy adott anyagra, ha annak retenciós ideje $t_{R_i} = 10 \text{ min}$?

$$N = 10000 \rightarrow \sqrt{N} = \frac{t_{Ri}}{\sigma_{t_i}} = 100$$

$$\sigma_{t_i} = \frac{t_{Ri}}{\sqrt{N}} = 0,1 \text{ min}$$

3. Példa

Egy kolonna elméleti tányérszáma $N = 10000$ és a mérendő komponensek megoszlási hányadosának aránya $K_2/K_1 = 1,1$. Megfelelő-e a csúcsfelbontás, ha k_1 legalább 3?

$$R \cong \frac{\sqrt{N}}{4} * \left(\frac{k_2}{k_1} - 1 \right) * \frac{\bar{k}}{\bar{k} + 1} \geq \frac{100}{4} * (1,1 - 1) * (0,75) = 1,9 > 1,5$$

Tehát a csúcsfelbontás megfelel a kérdéses paraméterek mellett való méréshez.

4. Példa

Egy folyadékkromatográfias oszlop hosszúsága 15,0 cm, az eluens térfogatárama 0,85 cm³/perc. Egy vissza nem tartott anyag csúcsának maximuma 1,25 perccel az injektálás után jelenik meg a kromatogramon.

Mekkora retenciós ideje egy $k = 3,5$ retenciós tényezőjű anyagnak?

Mekkora az oszlopban a mozgó fázis térfogata?

Útmutatás:

Adottak: L , \dot{V} (térfogatáram), t_0 , k

$$t_R = t_0(1 + k)$$

$$V_m = \dot{V} t_0$$

5. Példa:

Egy folyadékkromatográfias oszlop hosszúsága 15,0 cm, az eluens térfogatárama 0,95 cm³/perc. Egy anyagnak a csúcsmaximuma 7,2 perccel a minta beinjektálása után jelenik meg a kromatogramon. A csúcs szélességi paramétere (szigma) 5,6 másodperc. Mekkora az adott körülmények között az oszlopon az elméleti tányérmagasság?

Útmutatás:

Adottak: L , \dot{V} (térfogatáram), t_R , σ_t

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma_t} \right)^2$$

$$H = \frac{L}{N}$$

Ellenőrző kérdések

1. Mi a komponensek elválasztásának alapja a kromatográfiában?
2. Mi az állófázis szerepe a kromatográfiában?
3. Mit értünk elúciós kromatográfián? Rajzoljon fel egy sematikus elúciós kromatogramot! A kromatogram mely jellemzői függenek össze a mérendő komponens minőségével, illetve mennyiségével?
4. Rajzoljon fel egy (elúciós) kromatogramot két csúccsal és jelölje be a csúcsok jellemzésére szolgáló paramétereket! Írja fel hogyan számítható a bejelölt paraméterekből a felbontási tényező (R) és a tányérszám!

5. Rajzoljon fel egy (elúciós) kromatogramot két csúccsal és jelölje be a csúcsok jellemzésére szolgáló paramétereket! Írja fel hogyan számítható a kromatogramból a két retenciós tényező (k), az elméleti tányérszám (N), és a két csúcs szelektivitási tényezője (α)! A t_0 holtidőt tekintse ismertnek.
6. Mi és hogyan befolyásolja a kromatográfiában az elválasztandó anyagok csúcsának szélességét? A kromatográfiás csúcskiszélesedés fogalma, okai, jellemzése és az elválasztás mértékére gyakorolt hatása. (Ahol lehet, ismertessen kvantitatív összefüggést is!)
7. Hogyan befolyásolja a kromatográfiában az eluens összetétele és áramlási sebessége az egyes elválasztandó anyagok retenciós idejét? Indoklását a hozzátartozó összefüggésekkel (képletekkel) igazolja!
8. Hogyan függ egy kromatográfiás oszlop tányérszáma az eluens áramlási sebességétől?
9. Egy oszlopkromatográfiás elúciós elválasztásnál a minta két összetevője, A és B közül az A valamivel megelőzi B-t amikor nagyjából az oszlop hosszának negyedénél járnak. Az oszlop vége után kötött detektor által készített kromatogramon melyik csúcs jelenik meg előbb?
10. Rajzolja fel egy gázkromatográfiás berendezés elvi sémáját!

Gyakorló feladatok

1. Egy kromatográfiás oszlopon egy adott áramlási sebesség mellett az elméleti tányérmagasság az oszlop hosszának egy kétezerötszázad része volt. Milyen összefüggés van ezen az oszlopon és ennél az áramlási sebességnél az egyes elválasztott anyagok retenciós ideje és a hozzájuk tartozó, a detektorral mért csúcs szélessége között? $t_R = 50 \sigma$
2. Egy adszorpciós megoszláson alapuló kromatográfiás mérés kromatogramján egy csúcs retenciós ideje 5 perc, t_0 értéke 0,5 perc. Kérdés, hogy amíg a vizsgált anyag az oszlopon haladt, hányad része volt az álló és hányad része volt a mozgó fázisban? 9/10, 1/10
3. Egy adszorpciós megoszláson alapuló kromatográfiás mérés kromatogramján egy csúcs retenciós ideje 9 perc, t_0 értéke 1,5 perc. Kérdés, hogy amíg a vizsgált anyag az oszlopon haladt, hányad része volt az álló és hányad része volt a mozgó fázisban? 5/6, 1/6
4. Egy megoszlásos folyadékkromatográfiás elválasztásról az alábbi adatokat tudjuk: a vissza nem tartott anyag áthaladási ideje $t_0 = 1,00$ min, két elválasztandó anyag megoszlási hányadosa: $K_1 = 20$ és $K_2 = 22$, az elsőnek eluálódó anyag retenciós ideje $t_{R1} = 11,0$ min, az elméleti tányérszám $N = 12100$.
 - a. Mekkora a második anyag retenciós ideje? (12 min)
 - b. Sikerült-e alapvonal-elválasztást elérni? (igen, mivel $R_s = 2,52$ (2,50))
5. Egy megoszlásos folyadékkromatográfiás elválasztásról az alábbi adatokat tudjuk: az oszlop hossza $L = 10,0$ cm, a vissza nem tartott anyag áthaladási ideje $t_0 = 1,50$ min, az elméleti tányérmagasság $h = 10$ mikrométer, a fázisarány $V_s/V_m = 0,60$. Két elválasztandó anyag megoszlási hányadosa: $K_1 = 10$ és $K_2 = 11$.
 - a. Mekkora a két elválasztandó anyag retenciós ideje? (10,5 min)
 - b. Sikerült-e alapvonal-elválasztást elérni? (igen, mivel $R_s = 2,14$ (2,17))
6. Egy megoszlásos folyadékkromatográfiás elválasztásról az alábbi adatokat tudjuk: egy adott csúcs retenciós ideje $t_R = 10,0$ min, ugyanennek a csúcshoz, mint Gauss görbének a szélességi paramétere $\sigma_t = 6$ s. Egy másik csúcs retenciós ideje 10,8 min. Az elméleti tányérmagasság 15,0 mikrométer.
 - a. Milyen hosszú az oszlop (cm-ben)? (15 cm)
 - b. Sikerült-e a két anyagra alapvonal-elválasztást elérni? ($R_s = 1,95$, igen)
7. Elúciós oszlopkromatográfiás mérésnél egy adott komponens retenciós ideje 5 perc volt. Ezután a kromatográfiás körülményeket megváltoztattuk: a használt oszlop átmérője és az eluens térfogatárama is az előbbinek a kétszerese lett. Minden más körülmény változatlan maradt. Mekkora lett az adott komponens új retenciós ideje? ($t_R = 10$ min)

2.2. GÁZKROMATOGRÁFIA

2.2.1. Milyen anyagok elemzésére használható?

A minta lehet gáz vagy gőz, de legtöbbször szerves oldószerben készült oldat – utóbbit a beinjektálás után az ún. párologtató egységben (egy fűtött fémházba helyezett kvarc vagy üveg csőszakaszban) párologtatják el.

A kolonna légtermosztátban van, ez maximum 400 °C-ig fűthető, így a forráspont meghatározza a vizsgálhatóságot.

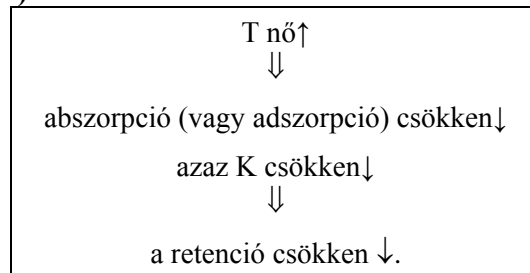
- Vizsgálhatók:
 - azok az anyagok, melyek kémiai átalakulás nélkül 350–400 °C-ig elpárologtathatók,
 - vagy ilyenné alakíthatók át egy viszonylag egyszerű kémiai reakcióval, például savak mérhető észter képzése után.
- Nem vizsgálhatók:
 - az ionos anyagok (mert a párologás során bomlanak).

Tehát az illékony anyagok meghatározására használható.

VOC (volatile organic compound, főleg környezetvédelemben használt kifejezés): illékony szerves anyag: olyan anyag melynek gőztenziója 25 °C-on eléri a 20–25 Pa-t (ez kb. 300–350 °C-ig forró anyagokra igaz).

2.2.2. A K (termodinamikai) megoszlási hányados függ

- Az **állófázis minőségétől**
 - Jobb elválasztás, ha hasonló minőségű (pl. polaritású), mint a minta (ionos nem lehet).
- A **hőmérséklettől (T)**



- **Koncentrációtól nem függ** (lineáris kromatográfiában).
- **A vivőgáztól nem függ** (mert gázfázisban nincs szolvatálás).

Programozott fűtés

A haladási sebesség függ a K-tól és így T-től is.

Légtermosztátban (tipikusan szobahőmérséklettől kb. 350 °C-ig fűtik).

A mérés történhet állandó kolonnahőmérsékleten (**izoterm** módon) vagy egy előre meghatározott program szerint időben változó, általában növekvő hőmérsékleten (**programozott** fűtés).

A programozott fűtés előnye: ha nagyon különböző K-jú komponensek vannak a mintában, akkor nagyon hosszú ideig tartana az elválasztás. A művelet gyorsítható, ha menet közben fokozatosan (rendszerint időben lineárisan) növeljük a kolonna hőmérsékletét.

2.2.3. *Mozgófázisok*

Vivőgázok: **H₂**; **He**; **N₂** (nagyon tisztának kell lenniük, ellenkező esetben az alapvonal magasabb, zajosabb, illetve ha oxigén van bennük, akkor a magas hőmérsékleteken oxidálódhat a minta, illetve az álló fázis).

Kapilláris kolonnák

A kapilláris kolonnákat ma sokkal kiterjedtebben alkalmazzák az analitikai gázkromatográfiában, mint a töltött oszlopokat.

Az állófázis rétegvastagsága nagyon fontos.

10-szer nagyobb tömegű állófázis \Rightarrow 10-szer nagyobb visszatartást eredményez,

↓ ezért

Nagy forrtpontú (kevésbé illékony) anyagokhoz

Kis filmvastagságú (0,1 μm) kolonna, mert így kisebb a visszatartás.

Kis belső átmérő: 300 μm -ig.

Vizsgálható: nagy móltömegű anyag \rightarrow nagyobb forráspont.

Pl.: hexaklórbenzol (növényvédő szer).

Kis forráspontú (illékonyabb) anyagokhoz

Nagy filmvastagságú (0,32–0,53 μm) kolonna, mert így nagyobb a visszatartás.

Pl: diklórmétán, kloroform, diklóretilén.

2.2.4. *Állófázisok*

Anyaga: többnyire **polimer**.

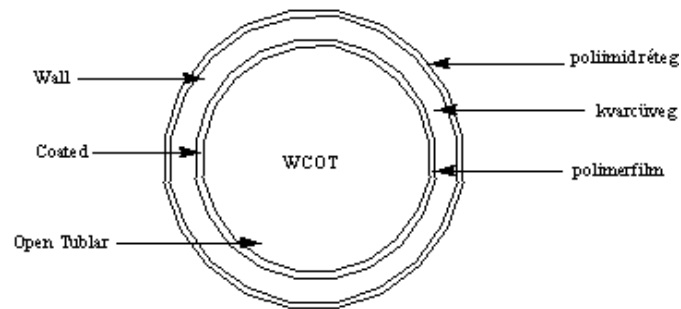
Több száz féle kapható, lehet **adszorpció**s vagy **abszorpció**s.

Kritériumai:

- ne párologjon el, **ne fogyjon el**,
- kémiaailag **stabil** legyen (van alkalmazhatósági maximális hőmérséklet),
- **ott maradjon** a helyén:
 - fizikailag kötött,
 - kémiaailag kötött.

*Abszorpció*s állófázisok

Úgy viselkednek, mint egy nagy viszkozitású folyadék \rightarrow a komponensek ebbe oldódnak bele.

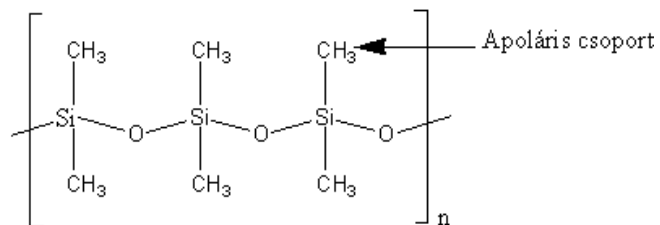


2.2.4.1. ábra. WCOT: Wall Coated Open Tubular Colum

Sziloxán (szilikon) állófázisok

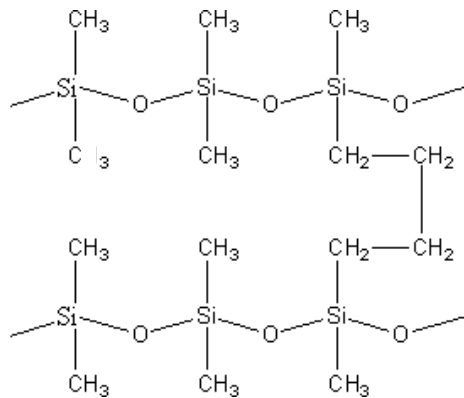
Poli-dimetil-sziloxán: → apoláris.

Polimer alapvázban: Si atomok kapcsolódnak össze O-en keresztül → Si-nak marad két kötés.



↓

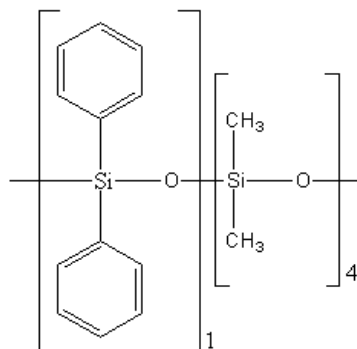
Keresztkötések kialakítása: **-CH=CH₂** tartalmú monomert is használva:



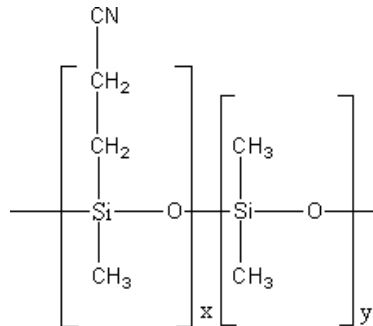
↓

Poláris molekulára is legyen használható: pl.minden 5. monomer egység **fenil-csoportot** tartalmaz.

Indukciós kölcsönhatás: ha dipól molekulával találkozik, akkor az aromásban dipólus indukálódik.



Még polárisabb állófázis: minél több nitril csoporttal (N nagyobb elektronegativitású, mint a C \Rightarrow dipolus).

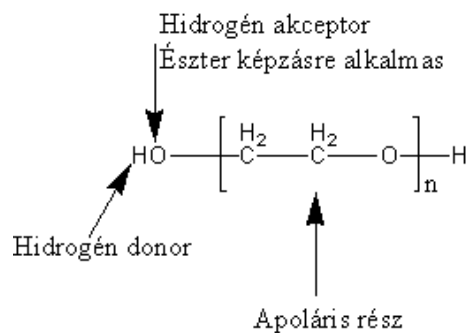


Ha **több féle polaritású komponens** van a mintában:

fontos a polimer lánc szelektivitása:

- van fenil, nitril, metil-csoport is \rightarrow mindegyik azt találja meg amit kötni tud.

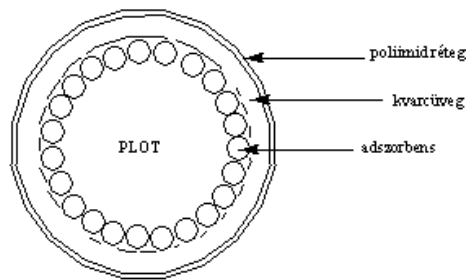
Polietilén-glikol lineáris polimer (PEG)



Adszorpciós állófázisok

Adszorber tulajdonságai:

- pórus térfogat,
- átlagos pórus átmérő,
- fajlagos felület.
- Szén molekula sziták (aktív szén) \rightarrow méret alapján különít el.
- Szilikagél.
- Aliminium-oxid.
- Sztírol-divinil-benzol (SZT-DVB).



2.2.4.2. ábra. PLOT: Porous Layer Open Tubular Colum.
Átmérője: pl. 0,53 mm.
Adszorbens átmérője: 5–50 μm

2.2.5. Gázkromatográfias készülék és eszközök képekben



2.2.5.1. ábra. Gázkromatográfias készülék

Figyeljük meg a termosztát kamrát, a **hőszigetelt ajtót**, a termosztálás beállítását gyorsító ventilátort és a berendezésbe helyezett feltekert **kapilláris oszlopot**. A berendezés felső részén látható az **automata mintaadagló** egység és a **gáznyomás mérők**. A berendezéstől balra a falon a **felhasznált gázok tisztítására szolgáló oszlopokat** látunk.



2.2.5.2. ábra. Automata mintaadagoló gázkromatográfhoz

A fenti képen láthatók a **mintatartó edények**, melyekből a skalázott **üvegfecskendő** szívja fel a folyadékmintát és inektálja az injektortérbe (ez utóbbi nem látszik).



2.2.5.3. ábra. A gázkromatográfias rendszer részegységei egymás mellé fektetve abban az elrendezésben, ahogy majd összekötésre kerülnek:

*folyadékminta fecskendő,
gumitömítés (szeptum), amin a fecskendő tűjét átszúrjuk,
elpárologtató tér üveg béléscsöve üveggyapot töltettel,
kapilláris oszlop,
fém csatlakozó elem,
lángionizációs detektor háza*



2.2.5.4. ábra. Gáz minták bemérésére szolgáló fecskendő (Hamilton-fecskendő)



2.2.5.5. ábra. Folyadékkromatográfiás rendszer részlete.

Jobb felső sarokban: automata mintaadagoló (bent injektorral, ami nem látszik).

Alatta: két HPLC pumpa, amiből csak a felső van éppen használatban.

Bal oldalt alul: HPLC oszlop.

A detektor az ábrán nem látszik. A csavaros kupakú üvegek eluenstartályok



2.2.5.6. ábra. HPLC-oszlopok és -töltetek (üvegben)



2.2.5.7. ábra. HPLC-injektor cserélhető adagolóhurkokkal

Figyeljük meg fent a nagy nyomás miatt szükséges **speciális tömítéseket** (kúpos fém elemek a csövek végén).



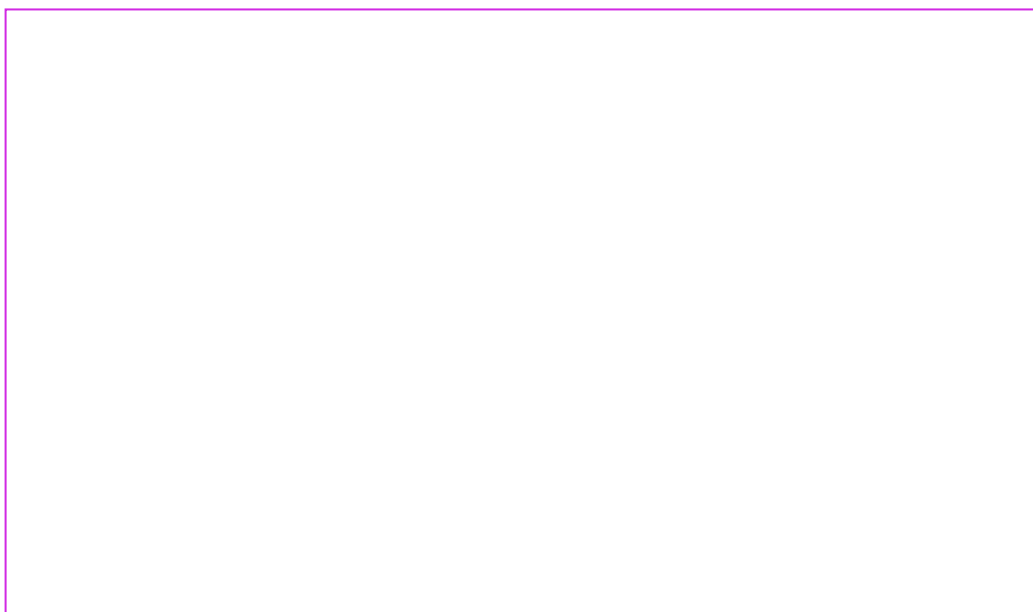
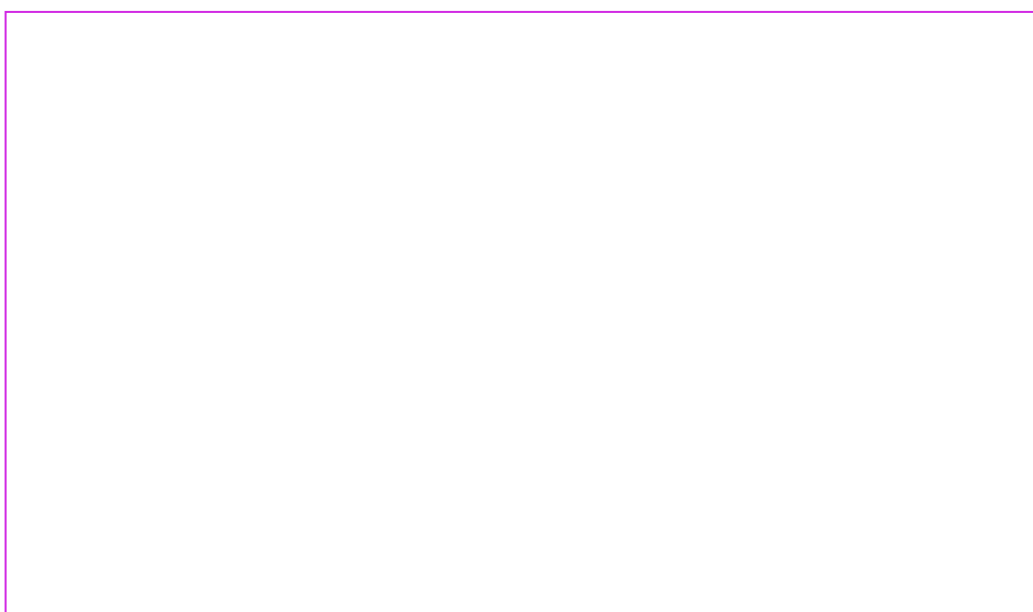
2.2.5.8. ábra. Spektrofotometriás HPLC detektorhoz való fényforrások, valamint átfolyó kivetta a küvettatartó (fekete) és pozicionáló (szürke) szerkezetben

A küvettaház acélból készült. Elöl látható rajta az oldatbevezető kapilláris. A kivezetés hátul van, ezért nem látszik. Felülről látható a házba becsavarható kerek elem, a közepén lyukkal. Ez az elem szorítja helyére a kivetta kerek kvarclapból készült ablakát. A fény a lyukon át jut be, és az alsó oldalon hasonló elemén át lép ki az el nem nyelt fény.



2.2.5.9. ábra. Analitikai HPLC-oszlop (fekete) és két preparatív (kis nyomású, üvegfalú) kromatográfias oszlop

VIDEÓ

*2.2.5.1. videó: HPLC pumpa**2.2.5.2. videó: HPLC – Kézi injektálás***2.2.6. Gázkromatográfiai detektorok**

A mérendő komponensek koncentrációját vagy tömegfluxusát mérik a kolonnát elhagyó eluátumban. Többféle szempont szerint csoportosíthatók. A leghasználhatóbb **csoportosítás a működési elv szerint** történhet. Így vannak:

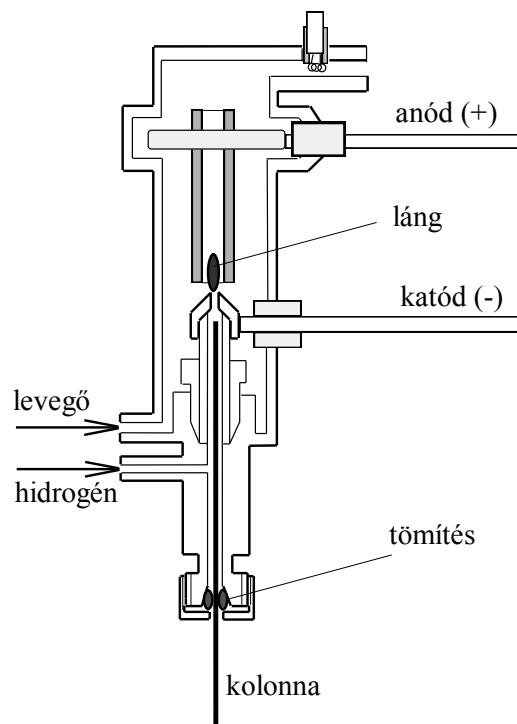
- ionizációs detektorok,
- fotometriás detektorok,
- hővezetőképesség-mérő detektorok és
- molekulaszелеktív vagy tömegspektrometriás detektorok.

Láng ionizációs detektor (Flame Ionization Detector, FID)

Az **ionizációs detektorok** csoportja a legnépesebb. A sokféle megoldásban az a közös, hogy a kolonnáról érkező gázáramot két olyan elektród közé vezetjük, amelyek egy egyenfeszültségű áramkörbe vannak kapcsolva. Az áramkörben csak akkor folyik áram, ha a két elektród között valamilyen energia segítségével ionokat hozunk létre. Természetesen arra törekszünk, hogy **a mérhető ionáram arányos legyen az elektródok közé jutó mérendő anyag mennyiségével**, pontosabban az időegység alatt bejutó anyag mennyiségével vagy a pillanatnyi koncentrációjával.

A **lángionizációs detektort** használják a legszélesebb körben. Ennek oka:

- a detektor viszonylagos egyszerűsége,
- alacsony kimutatási határa,
- valamint szinte egyedülállóan széles (10^7) linearitási tartománya.



2.2.6.1. ábra. A FID-detektor vázlata

Egy ilyen hidrogénláng-ionizációs detektor vázlatát mutatja az ábra.

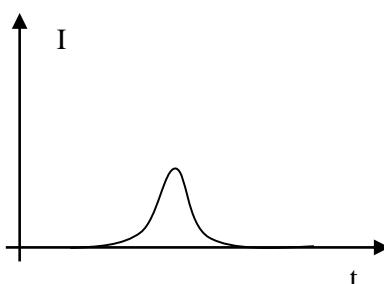
- A kolonnáról jövő gázáramhoz hidrogént keverünk, így jut be a gázáram az elektródként is szereplő mikroégőbe, melynek végén a hidrogént meggyújtjuk.
- Az égés fenntartásához az égőt levegővel öblítjük körül.
- A másik, ún. kollektorelektrod az ábrán egy cső, de lehet hengeres háló, vagy más alakú is.
- A detektorban diffúziós lamináris láng ég, melyben szerves anyag bejutása esetén töltéshordozók jönnek létre.

A ma elfogadott **Sternberg-féle elmélet** szerint a lángba bejutó szerves anyagból három lépésben keletkeznek töltéshordozók:

Az első lépés: termikus bomlás (pirólízis)	$C_nH_m \xrightarrow{\text{pirólízis}} n CH \cdot + (m - n) H \cdot$
a második lépés: oxidáció	$n CH \cdot + n O \cdot \xrightarrow{\text{oxidáció}} n CHO \cdot$
a harmadik lépés: ionizáció.	$n CHO \cdot \xrightarrow{\text{ionizáció}} n CHO^+ + n e^-$ formaldehid gyökion

Ha a lángdetektor lángjába szerves anyag kerül, valóban drámaian megnő a detektorjel az ionizációs lépésben a molekulában lévő szénatomok számával arányos számú elektron (e^-) keletkezésével.

- Első közelítésben azt mondhatjuk tehát, hogy a **detektorjel arányos a detektorba időegység alatt bejutó molekulák szénatomszámával**.
- Elmondható, hogy a hangyasav (és a formaldehid) kivételével minden elpárologtatható szerves vegyület detektálható.
- A N_2 , O_2 , nemes-gázok, CO , CO_2 , SO_2 , SO_3 , H_2S , CS , NO , NO_2 , N_2O , NH_3 , HX , H_2O nem adnak mérhető jelet.



2.2.6.2. ábra. A FID mért jele pozitív

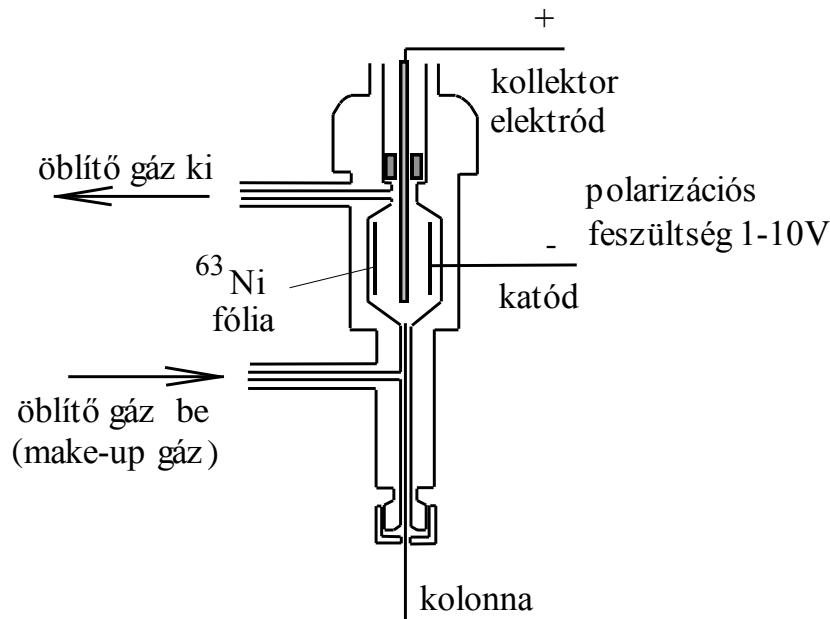
Előny: gyorsan reagáló detektor.

Hátrány: halogének csökkentik az érzékenységet.

Pl.: széntetraklorid \rightarrow halogén keletkezik \rightarrow befogják az e^- -t \rightarrow csökken az érzékenység.

Elektron befogásos detektor (Electron Capture Detector, ECD)

Az **elektronbefogási detektor** gyors elterjedésében közrejátszott az, hogy mint specifikus detektor, a halogéntartalmú növényvédő és rovarirtószer maradványok meghatározásában nélkülözhetetlenné vált. Az alábbi ábra egy elektronbefogási detektor vázlatát mutatja.

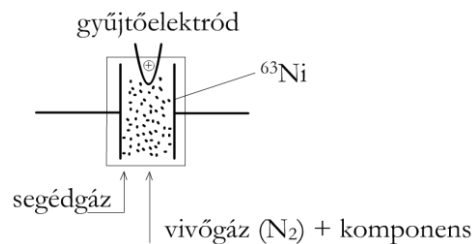


2.2.6.3. ábra. Az ECD-detektor vázlatja

- **Alapállapot:**

A vázlaton bemutatott ECD-detektorba ^{63}Ni természetes β -sugárzó izotópot tartalmazó fólia van beépítve. Ezt a fóliát az áramkörben negatív pólusként kapcsolják.

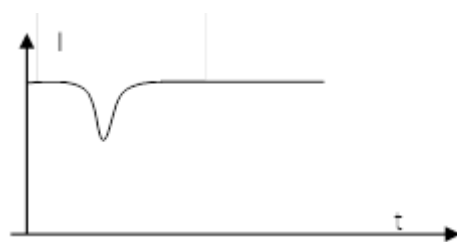
- A sugár-forrásból elektronok emittálódnak \rightarrow a kollektor (+) elektród felé haladva zárják az áramkört.
(Miután a polarizációs feszültség csak néhány volt (1–10 V), az elektronok nem rendelkeznek olyan energiával, hogy a jóval nagyobb ionizációs potenciálú szerves és szerves molekulákat ütközés révén ionizálják.)
Így a zárt áramkörben egy kicsi, de **jól mérhető alapáram folyik** (kb. 10^{-12} A).



2.2.6.4. ábra. Az ECD működésének elve

Méréskor:

Nagy elektronegativitású elemeket (F, Cl, O, Br) tartalmazó molekulák jutnak a detektorba \rightarrow ezek **abszorbeálják az elektronokat** ($\text{R} - \text{Cl} + \text{e}^{\uparrow} \rightarrow \text{R} - \text{Cl}^{\uparrow-}$) (ezek 3 nagyságrenddel lassabban mozognak, mint az elektronok) \rightarrow a vezetésben részt vevő elektronok száma csökken \rightarrow **alapáram lecsökken.**



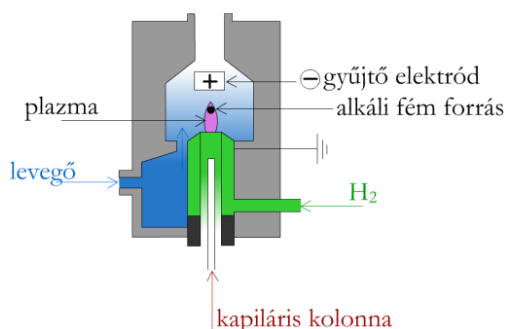
2.2.6.5. ábra. Az ECD mért jele negatív

Minél nagyobb a halogén koncentráció → annál jobban lecsökken a jel (függ a koncentrációtól).

Az ECD-detektorokat leggyakrabban N_2 eluenssel használják. Ez a detektortípus a **nagy elektronegativitású elemeket tartalmazó vegyületekre szelektív**. Pl.: CCl_4 ; $HCCl_3$ (kloroform); H_2CCl_2 ; H_3CCl , PCB (poliklórozott-bifenil); hexaklórbenzol (növényvédő szer).

N-P-detektor (Thermionic Detector =TID)

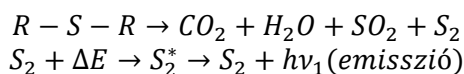
Egy további szelektív detektor az **N-, P-szelektív detektor**. Ez a nitrogén-, illetve foszfortartalmú vegyületekre szelektív, ami azért fontos, mert a növényvédőszeres többsége és a gyógyszerhatóanyagok jelentős része ilyen vegyület. Felépítése nagyon hasonlít a lángionizációs detektorhoz, de működése, melynek részleteivel itt nem foglalkozunk, nagyon eltérő.



2.2.6.6. ábra. A TID-detektor felépítése

Lángfotometriás detektor (=FFD) (S-re)

A fotometriás detektorban a lángionizációs detektorhoz hasonlóan hidrogénnel táplált lángba jut az eluátum, itt azonban a láng felső részének fénykibocsátását mérik bizonyos hullámhossztartományban. Utóbbtól függően kén- vagy foszfortartalmú vegyületek viszonylag szelektív mérése lehetséges szénhidrogén elegyekben (kőolajipar).



Fotoionizációs detektor (=PID)

Gázkisülési cső emittálja a fotont, nemesgázzal (Xe, Ar, Ne) töltött cső.

Az UV-fény hatására egyes szerves vegyületek (pl. aromások) kis hatásfokkal ugyan (kb. 0,1%), de ionizálódnak → töltéshordozók keletkeznek → így nő az áram.

Nincs szükség segédgázra (ezért „**zseb**kromatográf”-ban is alkalmazzák, lehetőséget ad helyszíni mérésekre). **Aromás** vegyületekre (**BTEX**) szelektív. Alkalmazzák tartályparkokban, hogy hol szökik a gáz.

Hővezetési detektor (Thermal Conductivity Detector = TCD)

A **hővezetőképesség-mérő detektor** működési elve az, hogy egy elektromosan fűtött vezető (vagy félvezető) és a jó hővezető környezete között stacioner hőátmenet alakul ki, ha a fűtött elem környezetében állandó áramlási sebességgel, állandó összetételű gázelegy áramlik.

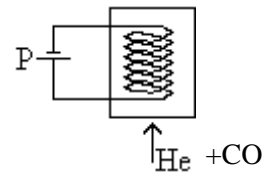
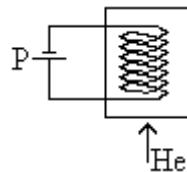
Megbomlik ez az állapot, ha a gázelegy összetétele megváltozik. Ha jobban vezeti a hőt, a fűtött elem lehűl, ha kevésbé, akkor felmelegszik. Mindenesetre megváltozik a hőmérséklete, és így az ellenállása is, amely mérhető. Ez az **ellenállásváltozás arányos a koncentrációval**.

Az áramlási sebesség ingadozása a hőmérséklettartást rontja, ez a hiba azonban az ún. differenciakapcsolással kiküszöbölhető. Ennek lényege, hogy két azonos hidegellenállású vezető vagy félvezető elemet tartalmazó hővezetőképesség-mérő cellát alkalmazunk úgy, hogy az egyikben csak az eluens (referencia cella), a másikon pedig a kolonnáról jövő gázáram halad át (mérőcella), és a két cella jelének különbségét mérjük.

A hővezetőképesség-mérő detektorok **univerzálisak**, azaz **minden** olyan **komponenst érzékelnek**, melynek hővezetőképessége eltér a vivőgázétól. (De csak azokra használjuk, ami az előbbi detektorokkal nem vizsgálható).

A H₂ és a He **hővezetőképessége jóval nagyobb, mint a többi gázoké és gőzöké** →
vivőgáz: He.

Állandó elektromos teljesítménnyel (P) **fűtik** az ellenálláshuzalt (Al tömbben).



He Q ₁ hőmennyiséget szállít el ↓ beáll egy T ₁ hőmérséklet ↓ ehhez tartozik egy R ₁ ellenállás.	He + minta (pl. CO) Q ₂ -t szállít el ↓ beáll egy T ₂ hőmérséklet ↓ ehhez tartozik egy R ₂ ellenállás.
---	---

A minta (CO) rosszabb hővezetésű ⇒ így a szál hőmérséklete nő (ugyanolyan teljesítménnyel fűtünk, de kevesebb hőt visz el a bevezetett gáz):

$$Q_2 < Q_1 \Rightarrow T_2 > T_1 \Rightarrow R_2 > R_1 \Rightarrow \Delta R,$$

ezt mérjük hídkapcsolással (pl. Wheatstone-híd).

Míg a régebbi makrocellás hővezetőképességi detektorok jellemzői (érzékenység, kimutatási határ stb.) eléggé kedvezőtlenek, addig a korszerű mikrocellás és rétegcellás változatok már kapilláris kolonnákkal is kitűnően működtethetők.

2.2.7. **DETEKTOROK**

	Érzékenység	Szelektivitás	Vizsgálható vegyületek
FID	jó	általános	alkán; aromás; olajszármazékok
ECD	jó	jó	halogénezett heteroatomos
TID	jó	némi interferencia	N-, P-tartalmú
FFD	jó	némi interferencia	S-, P-tartalmú
PID	megfelelő	lámpa függő	BTEX (aromás VOC)
TCD	gyenge	általános	szervetlen gázok

2.2.8. **Multidimenziós detektálási technika – összetettebb detektorok**

Cél: minőségi meghatározás.

Probléma: sok millió szerves vegyület között vannak azonos retenciós idejűek.

Benzol forrponjtja:	80,0 °C	} azonos retenciós idő.
Keton 1 forrponjtja:	79,9 °C	
Keton 2 forrponjtja:	80,1 °C	

Megoldás lehet:

- elreagáltatom a ketonokat,
- növelem a kolonna hosszát,
- változtatom az állófázist,
 - benzol: csak diszperziós kölcsönhatás,
 - ketonok: PEG-lal H-hidas kötések,
- vagy **multidimenziós detektálás** alkalmazása.

*Multidimenziós detektálás***Például:****GC-ICP-AES**

pl.: Pb mérés (ólom-tetraetil)

Hg a talajban → metil-higany keletkezik.

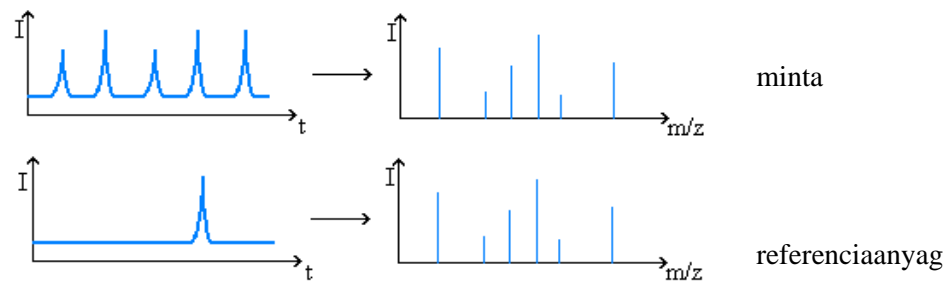
(Speciációs elemzés: a fém milyen vegyületben van jelen.)

Fourier transzformációs IR,

ehhez nagyobb anyagmennyiség kell (GC-hez nem jó).

GC-MS: rutin művelet,

- egymástól független adatok a retenció és a tömegspektrum, (egymásból nem vezethetők le, az információ „ortogonális”) ⇒ több dimenzió= multidimenzió.
- Itt is 2 mérés szükséges: referenciaanyagra, illetve -mintára vonatkozóan.



2.2.8.1. ábra. Ionkromatogram és tömegspektrum
Az ábra felső részén a tömegspektrum a negyedik csúcsra vonatkozik.

Az anyag azonosítva van, ha t_R és a tömegspektrum **is** megegyezik!

2.2.9. Mennyiségi elemzés

Először a kromatográfias mennyiségi elemzés általános szempontjait tekintjük át, utána pedig a gázkromatográfias mennyiségi elemzés sajátos problémáival foglalkozunk.

Kromatogram

A detektor egyes időpillanatokban **mért jelét időben regisztráljuk**, függvényként kezeljük.

- A **pillanatnyi jel függ** az adott pillanatban a detektorban tartózkodó, a detektor által mérhető **komponens(ek) koncentrációjától vagy tömegáramától** (gram/másodperc).
- Ha **sikerült egy mérendő komponenst teljesen elválasztani** a minta többi alkotójától, akkor a detektor jele **csak ennek a komponensnek a koncentrációjától** (vagy tömegáramától) függ.
(Itt feltettük, hogy az eluens nem ad jelet, vagy hogy az eluens jele konstans és így az alapvonalat alkotja, amihez képest a csúcsot mérjük.)

Mennyiségi meghatározás alapja a jel nagysága, kalibrálás

Ha az adott komponensből **különböző koncentrációkat** injektálunk, a detektorjel lefutása is különböző lesz. Nagyobb koncentrációhoz általában nagyobb csúcs tartozik. A legtöbb detektor esetén **az összefüggés lineáris**.

- A minta koncentrációjának meghatározására ezért a **csúcsmaximum magasságát** lehet például használni, különböző, ismert összetételű elegyekkel való kalibrálás alapján.
- Gyakori tapasztalat azonban, hogy jobban reprodukálható eredményeket kapunk, ha a csúcsmaximum helyett a **csúcs területét** mérjük. Lineáris jel-koncentráció összefüggés esetén a csúcsterület is lineárisan változik a beinjektált minta koncentrációjával.

dt idő alatt dV térfogat halad át, akkor $dn = c dV = c \cdot \dot{V} dt$.

Tehát a csúcs teljes lefutása alatt: $n = \dot{V} \int_{t_a}^{t_b} c dt$.

Problémák:

- A mért kromatográfias csúcsok nagysága egy-egy kromatogramon belül nem mutatja közvetlenül a komponensek koncentrációarányait, mert (akár csúcsmagasságot, akár csúcsterületet mérünk) a **kalibrációs egyenes meredeksége komponensenként más és más** lehet, akár nagyságrendi eltérésekkel is.

- Mindkét kiértékelési módszer esetén gondot okoz, ha a **mérendő koncentráció** olyan **kicsi**, hogy a jel szinte belevész az alapvonal zajába. Ez a gondolat vezet el a kromatográfias kimutatási határ fogalmához, amelyet itt nem részletezünk.
- Ha a **mérendő komponens nem sikerült teljesen elválasztani**, azaz a csúcsa valamelyest átlapol egy szomszédos csúccsal, a kiértékelés nehezkesebb és bizonytalanabb lesz.
- Ugyancsak nehézséget jelent, ha **az alapvonal nem vízszintes**, hanem eltolódik.

E problémák számításokkal való kezelésére sokféle módszert javasol a szakirodalom (amelyekkel itt nem foglalkozunk), de természetesen ha lehet jobb elkerülni magukat a problémákat egy jobban tervezett kromatográfias módszer alkalmazásával.

Belső standard módszere

Probléma:

A kromatográfias elválasztás előtt gyakran szükség van a **minta előkészítésére**, amely során a **mérendő komponens egy része is elveszhet**.

Mintaelőkészítés például lehet:

- valamilyen egyszerű művelet, például a pH beállítása,
- vagy esetenként a minta bizonyos összetevőinek eltávolítása, amelyek különben zavarnák a mérést.
Például vérplazmaminták HPLC-mérése előtt a vérben lévő fehérjéket célszerű eltávolítani, mert a kromatográfias eluensben kicsapódva eltömhetnék az injektort, a kapilláris összekötő csöveket vagy az oszlopot.

Az ilyen frakcionálási műveletek során a mérendő komponens egy része is elveszhet.

Megoldás:

Belső standard módszer: a mintához a mintaelőkészítés előtt ismert koncentrációban hozzáadnak egy olyan vegyületet, amelyik:

a mintában biztosan nem található meg,

de kémiai tulajdonságaiban a mérendő komponenshez nagyon hasonló.

Ha ez a vegyület az előkészítő műveletek során valóban pont úgy viselkedik, mint a mérendő anyag, akkor **kettejük koncentrációaránya az előkészítés során nem változik**. Így a kromatogramról leolvasott **csúcsmagasságaik vagy területeik aránya a mintaelőkészítés előtti koncentrációarányukat tükrözi**.

Mivel a standard koncentrációja a bemérésből ismert a mintaelőkészítés előtti elegyben, így a mérendő komponens valós koncentrációja is meghatározható, feltéve hogy a csúcsterületek aránya és a koncentrációk aránya közti összefüggést ismert koncentrációjú mintákkal előre meghatároztuk (kalibrálás). Egyszerűbb esetekben az összefüggés egyenes arányosság. Erre a gázkromatográfias mennyiségi elemzés kapcsán mutatunk példát.

2.2.10. A gázkromatográfias mennyiségi elemzés sajátosságai

A gázkromatográfias mennyiségi elemzésnek is, mint minden elemzési megoldásnak vannak különleges sajátosságai, amelyek az **elemzés eredményét alapvetően befolyásolhatják**.

A gázkromatográfia esetében ezek a mintabevitellel függenek össze. Így amíg gázelemzésnél a térfogat szerinti mintabevitel kitűnően használható, addig a folyadékok bemérésénél megengedhetetlen mértékű hibához vezet. Ez abból adódik, hogy a mikrofecskendővel **nagyon kis térfogatot** (1–2

mikrolitert vagy még kevesebbet) **kell bemérni**, ami eleve nem eléggé reprodukálható, továbbá a beinjektált minta minden alkotójának a teljes, pillanatszerű elpárologtatása sem mindig sikeres.

Ezeket a hibákat csak a térfogat szerinti mintabevitel hibáinak kiiktatásával, a relatív érzékenység alkalmazására épülő belső standard módszer alkalmazásával lehet elkerülni. Bizonyos esetekben azonban a kalibrációs módszer is használható.

Kalibrálás: kalibrációs görbével

A **kalibrációs módszer** (external standard, külső standard, abszolút kalibráció) több változata közül az ún. többpontos kalibráció:

- **kalibrációs egyenesek** segítségével az ismeretlen minta komponenseinek koncentrációja meghatározható.
(i az i-edik komponenszt jelenti, j pedig ennek a komponensnek a j-edik koncentráció értékét.)
 - **Különböző koncentrációjú ($c_{i,j}$) gázelegyek**
 - azonos térfogatrészleteit gázkromatográfiásan mérve, a **kapott csúcsterület ($A_{i,j}$) – koncentráció párok** összefüggése alapján készíthető a kalibrációs egyenes.

A kalibrációs módszer alkalmas:

- gázelemzésre,
- tájékozódó elemzésre,
- a linearitási tartomány meghatározására.

Kalibrálás: belső standard módszerével

A **belső standard módszer** (internal standard method) a relatív érzékenység (f_i) használatán alapszik, kiküszöböli a térfogatoss mintabevitelből adódó hibát.

(**mért adat**, **ismert adat**, **kiszámítható adat**)

1. mérés:

- Az oldatban **ismert** koncentrációjú (c_{1st}) **standard**.
- Az oldatban **ismert** koncentrációjú (c_{1i}) **vizsgált anyag**.

$A_{1st} = s_{1st} * c_{1st}$	$\rightarrow s_{1st} = \frac{A_{1st}}{c_{1st}}$
$A_{1i} = s_{1i} * c_{1i}$	$\rightarrow s_{1i} = \frac{A_{1i}}{c_{1i}}$
\downarrow $f_i = \frac{s_{1i}}{s_{1st}}$	

2. mérés:

- Az oldatban **ismert** koncentrációjú (c_{2st}) **standard**.
- Az oldatban **ismeretlen** koncentrációjú (c_{2i}) **vizsgált anyag**.

$A_{2st} = s_{2st} * c_{2st}$	$\rightarrow s_{2st} = \frac{A_{2st}}{c_{2st}}$
$f_i = \frac{s_{1i}}{s_{1st}} = \frac{s_{2i}}{s_{2st}}$	$\rightarrow s_{2i} = f_i s_{2st}$
$A_{2i} = s_{2i} * c_{2i}$	$\rightarrow c_{2i} = \frac{A_{2i}}{s_{2i}}$

Ahol: A_i és A_{st} a csúcs-területek,
 s_i és s_{st} arányossági tényezők.

A belső standard módszerek is több változata létezik. Ezek mindegyike fő alkotók elemzésénél $\pm 0,1\%$ -nál kisebb, míg mellékalkotók és nyomszennyezők elemzésénél ± 5 – 10% -os relatív hibával használható.

A módszer **alkalmazásának feltétele**, hogy:

- a vizsgált anyag kalibrációs egyenese az **origón menjen át** és ugyanez teljesüljön a belső standardra is.
- a belső standard **csúcsa ne lapoljon át** a minta egyik csúcsával sem,
- a **relatív érzékenység** mintáról mintára **ne változzon** számottevően.

Megjegyzendő, hogy a belső standard módszert nemcsak a gázkromatográfiában, hanem mindenfajta elválasztástechnikai módszernél lehet használni, de a célja többnyire nem az injektálás pontatlanságainak kiküszöbölése, hanem a **mintaelőkészítésnél fellépő anyagvesztések korrekcióba vétele**. Ilyen cél esetén a belső standardot már a mintaelőkészítés előtt hozzá kell adni a mintához.

2.2.11. A gázkromatográfia analitikai alkalmazásai

A gázkromatográfia analitikai alkalmazása igen sokrétű. A gázkromatográfia gyors fejlődése eredendően a kőolajipar és a petrokémiai ipar analitikai igényeinek a kielégítését célozta. E területen a jelentősége ma is meghatározó. Számos GC-detektor jelentősége a kőolajipar analitikai problémáinak fényében érhető meg (pl. szénhidrogének mérése univerzálisan, vagy aromások viszonylag szelektív mérése alifások mellett, vagy S-tartalmú szénhidrogének szelektív mérése sok egyéb szénhidrogén mellett).

- Emellett azonban egyre nagyobb szerepet tölt be:
 - a környezetvédelmi analízisben,
 - a gyógyszeripari elemzésekben, különösen a technológiai oldószermaradványok elemzésében,
 - az oldószer-regenerálás ellenőrzésében,
 - a technológiák nyomon követésében,
 - és a farmakológiai vizsgálatokban.
- Fokozódik a jelentősége az élelmiszerek, mezőgazdasági termékek minősítésében, különösen az aromaanyagok vizsgálatában (illékonyág!), valamint a szermaradványok (ti. növényvédőszer- vagy gyógyszermaradványok az élelmiszerekben, talajban, vízben, stb.) analízisében.
- Különleges és nélkülözhetetlen helyet foglal el a kozmetikai iparban az illatanyagok elemzésében is.

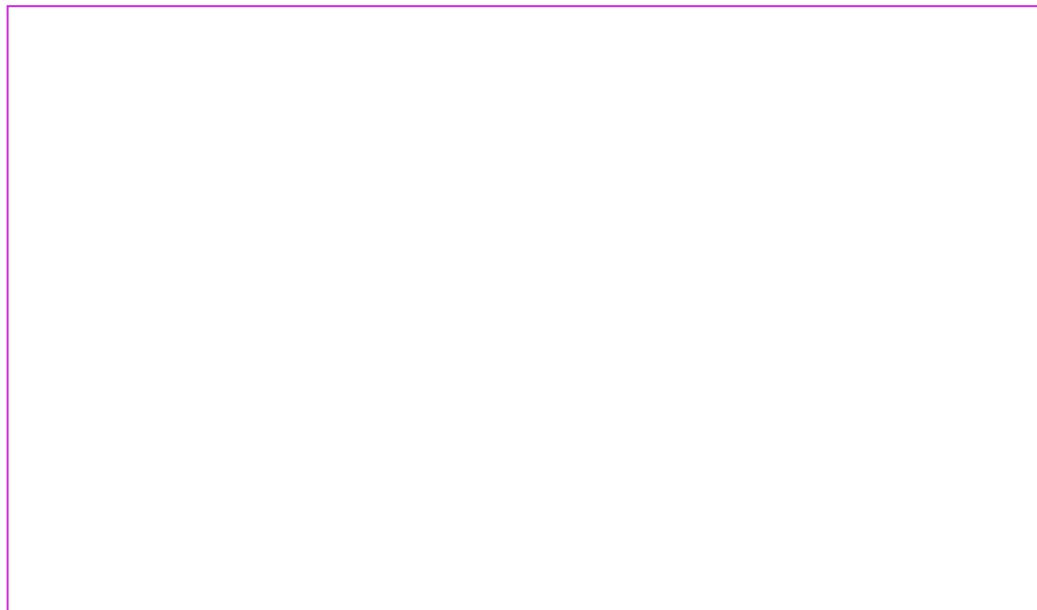
Mivel a nagy hatékonyságú kromatográfiai módszerekkel (ez a gázkromatográfiára és a HPLC-re is igaz) **nagyon hasonló vegyületek is elválaszthatók**, ezért különösen fontos alkalmazás a különféle izomerek elválasztása. Még tükörképi izomerek elválasztása is lehetséges, ha az állófázis királis.

A gyakorlati feladatok megoldása során meghatározó szerepe van a vizsgálandó minták megfelelő mintavételi megoldásainak és a mintaelőkészítésnek. Több olyan megoldás is ismeretes, amely a gázkromatográffal közvetlen kapcsolatban a mintaelőkészítés és az elemzés biztonságos és automatizált elvégzését teszi lehetővé (automatikus gőztér analízis, „purge and trap” módszer stb.). Ezekkel itt nem foglalkozunk.

Kiemelkedő jelentőségű összetett anyagok illó szerves alkotóinak a meghatározásában a **gázkromatográfia és tömegspektrometria együttes, összekapcsolt alkalmazása**. Az ilyen GC-MS (GC: gas chromatography – MS: mass spectrometry) műszerrendszerek (megfelelő adatfeldolgozó számítógépes háttérrel) egyidejűleg szolgáltatnak egyértelmű minőségi és megbízható mennyiségi információt az elemzendő mintáról.

A GC-MS műszerrendszer 10^{-13} – 10^{-15} g-nyi mennyiségek meghatározását is lehetővé teszi. Ez az oka annak, hogy egyre több területen terjed el az alkalmazása. Így különösen a környezetvédelmi analízisben és a szennyezőanyagok meghatározásában van nagy jelentősége, mivel e területen az egyre szigorodó szabályozás miatt egyre kisebb koncentrációjú szennyezők meghatározása a feladat. Pl. a poliklórozott-bifenilek (PCB-k), a klór-dibenzo-furánok, vagy a p-dibenzo-dioxinok (a legtoxikusabb képviselőjük a mutagén, teratogén hatásokat kiváltó 2,3,7,8-tetraklór-p-dibenzo-dioxin) meghatározására talajokból, üledékekből, élelmiszerekből, stb. a hazai és nemzetközi szabványok GC-MS mérési módszert írnak elő.

VIDEÓ



2.2.11.1. videó. SPE mintaelőkészítés

2.2.12. Kérdések és számolási feladatok

Ellenőrző kérdések

1. Milyen gázkromatográfiai módszereket ismer?
2. Körülbelül mekkora a legnagyobb forráspont, amelynél a gázkromatográfiai módszer alkalmazható! Adjon magyarázatot rá!

3. Mit értünk töltött ill. kapilláris oszlopon a kromatográfiában? Mit tud az állófázisról ezekben az esetekben?
4. Mit nevezünk izoterm, és mit programozott hőmérsékletű gázkromatográfiának? Miért szükséges a pontos és reprodukálható kolonnatér fűtés?
5. Milyen környezetszennyező anyagok határozhatók meg gázkromatográfiásan?
6. Milyen adszorbensek használhatók az adszorpciós kromatográfiában?
7. Adja meg egy poli-(dimetil-sziloxán) állófázis szerkezetét! Milyen komponensek meghatározására használjuk? Hogyan változik az állófázis polaritása, ha növekszik a fenil csoportok koncentrációja?
8. Adja meg a PLOT kolonna felépítését! Adja meg a WCOT kolonna elvi felépítését, adjon magyarázatot, az egyes részek szerepére!
9. Kapilláris gázkromatográfiás oszlopot eluciós mérésre használunk. Az állófázis a kapilláris belső falára felvitt vékony folyadékfilm. Adott eluens (vivőgáz) térfogatáram mellett függ-e - és ha igen hogyan - egy anyag retenciós ideje az oszlop hosszától, átmérőjétől illetve az állófázis vastagságától (Az állófázis vastagsága sokkal kisebb mint a kapilláris sugara.)?
10. Adja meg a visszatartás változását a kapilláris kolonna filmvastagságának függvényében!
11. Elválaszthatók-e egymástól gázkromatográfiásan az azonos szénatomszámú alkánok?
12. Ismertesse a gázkromatográfiában használatos lángionizációs detektor (FID) felépítését (ábrával) és működési elvét!
13. Adja meg az ECD elvi felépítését! Hogyan történik az ECD-ben a jelképzés? Ábrán mutassa be, és magyarázza meg!
Milyen típusba sorolható az ECD? Magyarázza meg!
Milyen vivőgázokat és milyen polarizációs feszültséget alkalmazunk az ECD-nél? Indokolja!
14. Milyen típusú vegyületek mérésére ad szelektív jelet a TID?
15. Adja meg a PID működési elvét!
16. Adja meg a TCD működési elvét (Rajzok)!
17. Miért nevezzük a GC-MS-t multidimenzionális módszernek?
18. Ismertesse a kromatográfiás mérések mennyiségi értékelésének módozatait!
19. Végezhetünk-e mennyiségi elemzést, ha a mérendő komponens koncentrációja és a válaszjel nagysága között nem lineáris az összefüggés? A választ indokolja!
20. Mi a mennyiségi meghatározás belső standard módszerének lényege?

Gyakorló feladatok

1. Adott komponens koncentrációjának mérésére két olyan módszerünk van, melyek esetében a jel és a koncentráció között lineáris az összefüggés. A két módszert 1,50 mg/l és 8,00 mg/l koncentrációjú standard oldatok segítségével hasonlítjuk össze. Az A módszer esetén a kisebb koncentrációjú oldattal 4,05 mA, a nagyobb koncentrációjúval 15,80 mA jelet mérünk. A B módszer esetén a mért értékek 12,0, illetve 34,5 mA. Melyik módszer érzékenysége nagyobb, és hány százalékkal?
2. Szénhidrogén-elegyben a ciklohexánt mérjük gázkromatográfiával, 1,4-dimetil-ciklohexán belső standard segítségével. Először ismert elegyet futtatunk, mely ciklohexánra nézve 1,0, dimetil-ciklohexánra nézve 2,0 tömegszázalékos; a megfelelő kromatográfiás csúcsok területe (önkéntes egységekben) 121, illetve 265. Ezután (azonos körülmények között) mérjük az ismeretlent, melyhez a belső standardot ismét 2,0 tömegszázalékos arányban adjuk hozzá. A csúcsterületek értéke ekkor 206, illetve 252 egység. Számítsa ki az ismeretlen minta ciklohexán tartalmát! A csúcsterületek a komponensek mennyiségével egyenesen arányosak.
3. Eluciós oszlopkromatográfiás (töltetes oszlop!) mérésnél egy adott komponens retenciós ideje 6 perc volt. Ezután a kromatográfiás körülményeket megváltoztattuk: a használt oszlop átmérője és az eluens térfogatárama is az előbbinek a kétszerese lett. Minden más körülmény változatlan maradt. Számítsa ki az adott komponens új retenciós idejét!
4. Egy vegyület koncentrációját adott műszeres módszerrel kívánjuk mérni. A kalibrációhoz a vegyületből 5,0; 8,0; 12,0; 16,0 és 20,0 mg/l koncentrációjú standard oldatokat készítünk,

ezekkel rendre 0,780; 1,248; 1,872; 2,440 és 2,945 értékű jelet kapunk (önkéntes egységekben). Egyenes arányosság áll-e fenn a jel és a koncentráció között? Alkalmas-e a módszer a koncentráció mérésére az 5-20 mg/l koncentráció tartományban?

5. Egy A komponens oldatbeli koncentrációját olyan analitikai módszerrel mérjük, mely a koncentrációval egyenesen arányos jelet ad. A mennyiségi elemzéshez a B belső standardot használjuk. Először egy olyan oldatot mérünk, melyben mind az analít, mind a standard koncentrációja 10^{-4} M; ekkor az A komponens jele 120,8; a B komponensé 91,2 egység. Ezután vizsgáljuk az ismeretlen oldatot, melyhez annyi B komponenset tettünk, hogy annak koncentrációja 10^{-4} M legyen. Ekkor az A és B komponensekhez tartozó jel rendre 142,5 illetve 93,1 egység. Számítsa ki az A komponens koncentrációját az ismeretlen oldatban! (1,15 \times 10⁻⁴ M)
6. Egy adszorpciós megoszláson alapuló kromatográfias mérés kromatogramján az A anyag csúcának retenciós ideje 12,00 perc, t_0 értéke 2,00 perc. Az eluens térfogatára 1,00 cm³/perc. Az állófázis térfogata az oszlopban $V_s = 1,00$ cm³. Mennyi az A anyag megoszlási hányadosa a mozgó és az álló fázis között? (K=10)

2.3. FOLYADÉKKROMATOGRÁFIA

A folyadékkromatográfiában az eluens folyadék halmazállapotú. Kezdetben a függőlegesen befogott kromatográfias oszlopon az eluens pusztán a hidrosztatikus nyomáskülönbség hatására áramlott át. Ez csak viszonylag nagy szemcseméretű állófázis alkalmazása esetén volt elég gyors, viszont az elméleti tányérmagasság a nagy szemcsék miatt nagy volt. Később áttértek a nagynyomású pumpák használatára, ami lehetővé tette a kisebb szemcseméreteket és a hatékonyabb elválasztásokat. Így alakult ki a HPLC: high performance liquid chromatography (vagy: high pressure liquid chromatography). Az analitikában ma már csak a nagynyomású módszer használatos.

2.3.1. A HPLC-módszerek osztályozása

Kromatográfias módszer	Állófázis minősége	Mozgófázis összetétele
Normál fázisú HPLC	Poláris	Apoláris
Fordított fázisú HPLC	Apoláris	Poláris
Fordított fázisú ionpár-kromatográfia	Apoláris	Poláris oldószerhez hidrofób iont adunk
Ioncserés	Felületen töltés van	Puffer
Ionkizárásos kromatográfia	Felületen erős kationcserélő van	Ásványisav-tartalmú víz vagy víztartalmú elegy
Ionkromatográfia	Kis ioncserélő kapacitású töltet	Közepes vezetési puffer
Méretkizárásos kromatográfia	Nagy pórusátmérőjű töltet	Víz vagy szerves oldószer

A fenti **táblázatban** az egyes HPLC-módszerek besorolása az álló- és a mozgófázis jellemző tulajdonsága alapján történt.

Eluenserősség

A folyadékkromatográfiában a mozgófázis jellemzésére alkalmazzák. Az eluenserősség (oldószer-erősség) a vizsgált komponensek zömére érvényes tulajdonsága az eluensnek.

- Ha az eluenserősség kicsi, akkor a visszatartás (retenciós idő) nagy,
- fordított esetben viszont a visszatartás kicsi.

2.3.2. Normál fázisú folyadékkromatográfia (normal phase chromatography, NP-HPLC)

Ha az **állófázis polárisabb, mint a mozgófázis**, vagy ami ezzel egyenértékű megfogalmazás: a mozgófázis apolárisabb jellegű, mint az állófázis. (A „normál” név csupán arra utal, hogy ez a technika terjedt el először.)

Állófázis: szilikagél

Állófázisnak **poláris felületű, mechanikailag stabil** (nyomásálló!) adszorbensek használhatók. Az NP-HPLC-ban ilyen mechanikailag ellenálló töltet a **szilikagél**. A szilikagél poláris jellegét a felületén található szilanolcsoportok adják.

- A szilanolcsoportok savas karakterűek. Azokat a vegyületeket, amelyek savkatalízis hatására átalakulnak, szilikagélen nem lehet meghatározni. Szilikagél helyett ekkor semleges vagy enyhén bázikus alumínium-oxidot használunk.

Mozgófázis: pl.: hexán + metanol

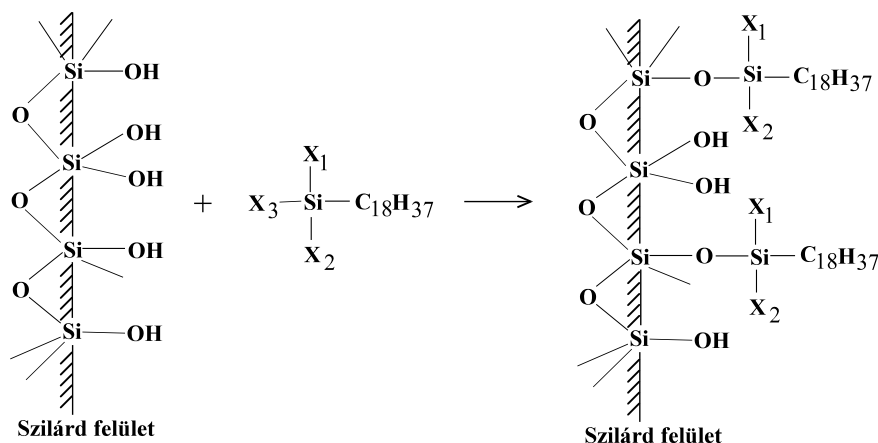
A NP-HPLC-ben minél apolárisabb egy oldószer, annál kisebb az eluenserőssége. Az eluens (mozgófázis) fő komponense általában valamilyen szénhidrogén, például hexán. Ehhez az alapoldószerhez adunk 0,1 – 20,0 $\frac{V}{V}$ % -ban poláris oldószert, például metanolt. A poláris oldószer koncentrációjának növelésével általában meredeken nő az eluenserősség.

2.3.3. Fordított fázisú kromatográfia (reversed phase chromatography, RP-HPLC)

Az állófázis mindig apolárisabb jellegű, mint a mozgófázis.

Állófázis: módosított szilikagél

A normál fázisú folyadékkromatográfiában használt szilikagél nagy mechanikai stabilitású, felülete viszont poláris. Ahhoz, hogy a felülete apoláris legyen, alkilcsoportokat tartalmazó **klórszilánnal szokták reagáltatni**.



2.3.3.1. ábra. Szilikagél felületének módosítása klórszilánnal.
Eltérő felületi struktúrákat kapunk: attól függően, hogy az X_1 , X_2 csoport
-Cl, -OCH₃ vagy -CH₃

A szilanolcsoportok egy része szabadon marad a hosszú alkilláncok túlszűföldése miatt. A szabadon maradt szilanolcsoportokat általában még egy rövid alkilcsoportokat tartalmazó klórszilánnal lekötik (endcapping), mert a szabad OH-csoportok egyes elválasztandó vegyületeknél erősen aszimmetrikus csúcsalakot okoznak.

A szilikagél alapú állófázisoknál kritikus az eluens közeg pH-ja.

- A szilikagél lúgos közegben oldódik. Az alkalmazásának **felső pH határa** ott van, ahol az oldhatóság már jelentős (pH = **8–9**).
- Kis pH-értékeknél a felületen levő alkilcsoportok hidrolízisének a sebessége nő jelentősen. Az alkalmazás **alsó pH értéke 1–2** pH-nál van.

Használatosak még egyéb töltetek is, például a nyomástűrő szén fázisok, polimer bevonatú szilikagélek, alumínium-oxid és cirkónium-oxid alapú töltetek.

Az alkalmazások döntő többségében azonban a szilikagél alapú fordított fázisú töltetek a meghatározóak.

Mozgófázis: oldószerkegy

Poláris, kis viszkozitású, és a detektálást nem zavaró (például UV-detektor alkalmazása esetén jó UV-fényáteresztésű) oldószerkegy. Az oldószerkegy **legpolárisabb összetevője a víz**. A víznél kapjuk a legnagyobb visszatartást, így az eluenserőssége kicsi.

A **retenció csökkentésére a vízhez vele elegyedő oldószert** kell adnunk. Ilyen szerves oldószerek a következők: metanol (MeOH), acetonitril (ACN), etanol (EtOH), 2-propanol (2-PrOH), tetrahydrofuran (THF) és dioxán.

Ezek az oldószerek az apoláris jellegű analátokat az előzőekben megadott sorrendben növekvő mértékben oldják, és így az eluenserősségük is így növekszik.

- A fentiekben felsorolt oldószerek **vízzel elegyítve** (H₂O-MeOH, H₂O-MeOH-THF stb.) megfelelő elválasztást adnak, ha az analát nem tartalmaz savas vagy bázikus jellegű csoportot.
- Ha tartalmaz, akkor a disszociációt, illetve a protonálódást vissza kell szorítani, mivel az ionos forma az apoláris állófázison egyáltalán nem adszorbeálódna. Ilyenkor az eluens **pH-ját pufferekkel** alkalmas értékre kell beállítani. A pufferkoncentráció az eluensben 10–100 mmol/dm³ között változik. A leggyakrabban foszfát, borát és acetát puffereket használunk.

2.3.4. Fordított fázisú ionpár-kromatográfia

Az ionos vagy könnyen ionizálható vegyületek visszatartása a RP-HPLC-ben kicsi. A visszatartás növelésére és egyúttal a fordított fázisú kromatográfias rendszer szelektivitásának növelésére az **eluensbe 1–100 mmol/dm³ koncentráció tartományban ionpárképző hidrofób iont tehetünk**.

- A hidrofób ionok tipikusan ionos jellegű felületaktív anyagok, pl. nátrium-dodecilszulfát ionjai.
- A hidrofób ion **töltése** a meghatározandóéval **ellentétes**. A hidrofób ellenion hatására megnő a vele ellentétes töltésű szerves vegyületek retenciója. Ennek mechanizmusa nem teljesen tisztázott.

2.3.5. *Ioncserélő kromatográfia és ionkromatográfia*

Az **ioncserélő** kromatográfiában (ion exchange chromatography) és **ionkromatográfiában** (ion chromatography) hasonló típusú ioncserélőket használunk, azzal a különbséggel, hogy ionkromatográfiánál a lehető legkisebb ioncserélő kapacitású töltetet kell használni.

Pozitív vagy negatív töltésű állófázis alapján lehet: anion- vagy kationcserélő

- Azokat az ioncserélőket, amelyek a kromatográfiás gyakorlatban használt pH-tartományban (általában 1–14) megtartják töltésüket **erős anion- és kationcserélőknek** nevezzük (pl. kvaterner ammóniumiont vagy szulfonsavcsoportot tartalmazó gyanták).
- Azokat pedig, amelyek a pH változtatásával válnak ionossá (pl. karboxil-csoport disszociációja, amin-csoport protonálódása) **gyenge anion-, illetve kationcserélőknek** nevezzük.

Az ioncserélők váza vagy szerves polimer (pl. sztirol-divinil-benzol), vagy módosított szilikagél. A modern folyadékromatográfiás gyakorlatban azok a szerves polimer alapú töltetek kerültek előtérbe, amelyeknél az ioncserét és a töltet bizonyos mértékű apoláris jellegét is ki tudjuk használni. Példaként a szulfonált sztirol-divinil-benzolt említjük. A szilikagél alapú ioncserélők alkalmazási pH-tartománya a fent már említett okok miatt korlátozott.

Mozgófázis: puffertartalmú víz-só-szerves oldószer elegy

A **puffer** pH-val a vegyület disszociációfokát, a sókoncentrációval az ellenion mennyiségét és ezáltal az eluenserősséget, a szerves oldószerral a vegyület oldhatóságát tudjuk a mozgófázisban befolyásolni.

Detektálás

Szervetlen ionok meghatározásánál az ionkromatográfiában a fő detektálási módszer a **vezetőképesség mérés** (mivel általában nincs UV-elnyelésük, tehát a legszokványosabb detektorral nem mérhetők). Ez a módszer megköveteli, hogy a detektorcellába jutó eluens vezetése, vagyis a háttérjel ne legyen túl nagy. Az eluáláshoz viszont valamilyen **elektrolitoldat** kell (hiszen például a desztillált víz nem eluálja a megkötött ionokat az ioncserélő töltetről). Az eluens vezetését úgy tudjuk csökkenteni, hogy az analitikai, vagyis az elválasztást végző kolonna után egy „reaktort” helyezünk el, amellyel az összes iont, kivéve a meghatározandókat eltávolítjuk (ionelnyomás). Ekkor az angolszász irodalomból átvett terminus szerint ún. „suppressed ion chromatography”-ről beszélünk. Ennek technikai részleteit itt nem tárgyaljuk, de az érthetőség kedvéért megjegyezzük, hogy természetesen a meghatározandó ionokkal egyenértékű mennyiségben ellenionok is maradnak az oldatban az ionelnyomás után.

2.3.6. *Ionkizárásos kromatográfia*

Az **ionkizárásos** kromatográfiánál hidrogén formában lévő **erős kationcserélőt** használunk állófázisként. Az ioncserélő (szakmai zsargonban: gyanta) pórusaiba a negatív töltésű ionok nem jutnak be (ionkizárás), ellentétben a semleges molekuláris formában lévőkkel, melyek a felülettel diszperziós, **H-hidas kölcsönhatásba** lépnek, vagy a pórus felületén adszorbeálódott **filmbe beoldódnak**. A módszert elsősorban gyenge savak elválasztására alkalmazzák. Ezek az eluens pH-jától függő mértékben vannak disszociálatlan (tehát semleges) vagy ionos formában. A retenció a két forma arányától függ, mert csak a semleges forma kötődik, viszont a két forma között gyors egyensúly van.

2.3.7. Méretkizárásos kromatográfia

A **méretkizárásos** kromatográfiát különböző molekulatömegű komponensek (általában polimerek) elválasztására használják. A hagyományos kromatográfiában alkalmazott porózus töltetek pórusátmérője 5–15 nm között van. Ezekbe a pórusokba még a kb. 10^3 – 10^4 molekulatömegű molekulák akadálytalanul be tudnak diffundálni. A **nagyobb molekulák azonban nem férnek be**, és így kizáródnak a pórusokból. A 10^3 – 10^4 -nél nagyobb molekulatömegű anyagok elválasztása tehát csak akkor valósítható meg, ha növeljük a töltet pórusátmérőjét. A töltet itt nem adszorbeál, az elválasztás alapja az, hogy a töltet pórusainak a méreteloszlása nagyon tág és épp az elválasztandó, különböző méretű makromolekulák mérettartományában van.

A mintában lévő nagyobb molekulák csak a nagy pórusokba tudnak bediffundálni, a kisebb molekulák a kisebbekbe is, az oldószer molekulái pedig minden pórusba beférnek. Emiatt a nagy molekulák számára az oszloptérfogatnak csak kisebb része átjárható, mint a kisebbeknek, és így a nagyobb molekulák hamarabb jutnak az oszlop végéhez, mint a kisebbek. A **leglassabban az oldószer molekulái** jutnak át. Itt tehát a szokásos értelemben vett t_0 -hoz képest az elválasztandó anyagok mind előbb eluálódnak. Attól függően, hogy az elválasztandó minta vízben vagy szerves oldószerben oldódik, beszélünk vizes vagy szerves oldószeres közegű méretkizárásos kromatográfiáról. Vízben általában a biopolimerek (pl. fehérjék) oldódnak jól. A szintetikus polimer molekulák szerves oldószerben oldódnak, így elválasztásukkor tetrahidrofuránt, toluolt kell eluensként alkalmazni (de toluol esetén UV-detektor nem használható). Régebben ezt a módszert nevezték gél-, vagy gélpermeációs kromatográfiának (gel permeation chromatography, GPC) is.

2.3.8. A HPLC-rendszer egyéb elemei

Az oszlop általában 5, 10, 15, vagy 20cm hosszú,

- anyaga: **acél**, a nagy nyomásesés (tipikusan 100–400 bar) miatt, amire a kis töltetszemcsék (átmérő néhány mikron) miatt van szükség – a kis szemcseméret pedig azért kell, hogy az elméleti tányérmagasság kicsi legyen,
- speciális tömítéseket alkalmaznak,
- hogy használat közben ne tömörödjön össze a töltet, nagyobb nyomáson töltik, mint amin használni fogják,
- kb. fél focipályányi adszorpciós felület van a pórusok felületén egy tipikus oszlopban.

Az eluenst (mozgófázis) nagynyomású szivattyúval áramoltatjuk, ami 0,1–10 cm³/min áramlási sebességet és 400 bar (újabbán akár 1200 bar: UPLC) nyomást tud biztosítani, 1–3 % térfogatáram-fluktuáció mellett.

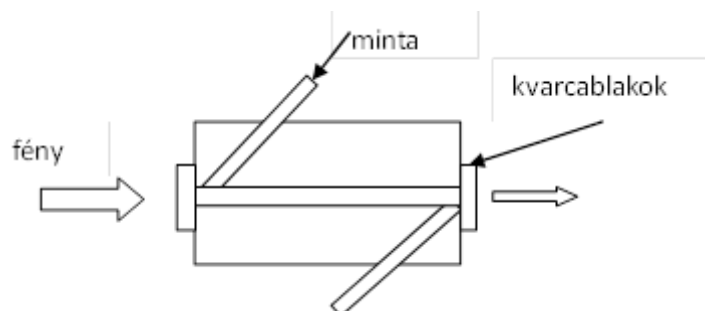
- **Izokratikus** elválasztásról beszélünk, ha a nagynyomású szivattyú az elválasztás ideje alatt végig állandó összetételű mozgófázist szállít.
- Ha időben változtatjuk az eluens erősségét, akkor az ún. **gradiens elúciós** elválasztást valósítjuk meg. Amennyiben két oldószer elegyével dolgozunk, akkor binér, ha hárommal, terner eluensről (illetve gradiens elúcióról) beszélünk. A gradiens elúció hasonlít a gázkromatográfiában alkalmazott programozott fűtéshez. Az eluenserősség folyamatos növelésével csökkennek a megoszlási hányadosok, így olyan elegyek is hatékonyan kromatografálhatók, melyekben nagyon eltérően adszorbeálódó vegyületek vannak egymás mellett.

A mintát (2–10 µl) bemérőcsap segítségével juttatjuk be az eluens áramba. A minta adagolása történhet manuálisan, vagy automata mintaadagolóval. Automata mintaadagolóval általában 25–100 minta adagolása lehetséges előre programozott időrend szerint.

Az oszlop átmérője analitikai elválasztásoknál 2–8 mm. Ha az átmérőt 2 mm alá csökkentjük, akkor szűk furatú (narrow bore), ha 1 mm körüli értékre mikrofuratú (microbore), ha ez alá az érték alá megyünk mikro-folyadék-kromatográfiáról beszélünk. Ha az állófázist egy kapilláris belső felületére visszük fel, akkor kapilláris folyadékkromatográfias módszerről beszélünk. Ez utóbbi módszert csak

speciális esetekben használják. A kis átmérőjű oszlopok alkalmazása esetén a térfogatáramot csökkenteni kell a nyomásesés miatt.

Detektorok



2.3.8.1. ábra. UV-detektor átfolyásos küvetája

A modern HPLC készülékekben a következő detektor típusok használhatók a kolonnáról eluálódó komponensek nyomonkövetésére:	A detektorokban az átfolyásos küvetta (cella) térfogata 1–10 μl között változik. A kimutatási határok az egyes detektor típusoknál a következők:
• UV, UV-VIS abszorpciós detektorok,	kb. 0,1 ng
• fluoreszcenciás detektorok,	kb. 0,01–0,001 ng
• elektrokémiai detektorok (amperometriás, coulometriás),	kb. 0,01–0,001 ng
• vezetőképességi detektorok,	1–10 ng
• törésmutató-különbség mérésén alapuló detektorok (RI: refractive index),	10–100 ng
• egyéb: radiokémiai detektorok, polarimetriás detektorok, fényszórás mérésén alapuló detektorok.	

Ezek a kimutatási határok a beinjektált mintarészletben a meghatározandó komponens mennyiségét jelentik és az adott detektorral jól mérhető anyagokra vonatkoznak. A detektor kiválasztását mindig a vizsgálandó vegyület tulajdonságai szabják meg.

Multidimenziós detektorok

A felsorolt detektorok mindegyike egyetlen jelet szolgáltat az idő függvényében. Vannak olyan detektorok is, amelyek egy-egy időpillanathoz vagy szűk időintervallumhoz nem egyetlen jelet, hanem egy egész spektrumot tudnak hozzárendelni. Ilyen az ún. diódasoros spektrofotometriás detektor, amely folyamatosan képes regisztrálni az eluátum UV-VIS spektrumát. Ennél a detektornál a kromatogramot három dimenziós ábraként vagy szintvonalas, térképszerű ábrázolásban adják meg. Az ábra alapsíkján a koordináták az idő, illetve a hullámhossz, a függőleges tengely vagy a szintvonalak pedig az abszorbanciát mutatják. Az ilyen kromatogram információirtartalma nagyobb mintha csak egyetlen hullámhosszon mérnénk.

Az utóbbi időben nagyon elterjedt a tömegspektrometriás detektálás is (HPLC-MS). Ennek kimutatási határa a legjobbak között van és még ma is évről évre tovább csökken. Az MS-detektorok szelektivitása bizonyos típusok esetén különlegesen nagy. Pontos mennyiségi mérésre nem minden típus alkalmas. Itt is lehetséges teljes spektrumok regisztrálása az eluciós idő függvényében, vagy csak egyetlen kiválasztott tömeg/töltés arány követése.

Lehetséges IR- vagy NMR-spektrumok felvétele is az idő függvényében. Ezeknek a detektoroknak az alsó méréshatára viszonylag magas az előbbiekhöz képest.

A folyadékromatográfia gyakorlati alkalmazása

A folyadékkromatográfiát ma még a gázkromatográfiánál is szélesebb körben alkalmazzák. Különösen jelentős a GC-vel nem mérhető (mert nem illékony) anyagok mérésére. Ilyen tulajdonságú nagyon sok biológiailag aktív anyag, gyógyszerhatóanyag, növényvédőszer, élelmiszeralkotó, stb., és ilyen a legtöbb polimer (fehérjék, peptidek, DNS, RNS, ipari polimerek), valamint minden ion.

2.3.9. Kérdések és számolási feladatok

Ellenőrző kérdések

1. Mit értünk kromatográfián? Mi az elválasztás alapja?
2. Hasonlítsa össze a gáz- illetve folyadékkromatográfia alkalmazási lehetőségeit!
3. Mit jelent a HPLC rövidítés? Mi a folyadékkromatografálhatóság feltétele? Milyen nyomástartományban használjuk? Milyen követelmények vannak az állófázissal szemben?
4. Milyen szemcse mérettartományban használunk állófázisokat a folyadékkromatográfiában? Mi szabja meg a szemcseméret alsó határát és miért? Elválasztás szempontjából mit befolyásol a szemcsékben lévő pórusok átmérője?
5. Milyen követelmények vannak a HPLC-ben használt mozgófázisokkal szemben? Miért?
6. Definiálja a NP-HPLC-t! Rajzoljon fel egy a NP-HPLC-ben használt állófázist! Milyen pH tartományban használhatók az egyes álló fázisok NP-HPLC-nél? És miért? Milyen mozgófázisokat használunk NP-HPLC-nél? Milyen elvárások vannak ezekkel szemben?
7. Ismertesse a RP-HPLC-t! Rajzoljon fel egy RP-HPLC-ben használt módosított szilikagél állófázist! Milyen pH tartományban használható ez az állófázis? Miért? Milyen mozgófázisokat használunk RP-HPLC-nél? Milyen elvárások vannak ezekkel szemben?
8. Mi az eluenserősség?
Melyik az erősebb a RP-HPLC-ben: 60:40=MeOH:H₂O vagy 80:20= MeOH:H₂O?
9. Egy folyadékkromatográfias rendszerbe kétszer injektáltak (adagoltak be) ugyanabból a mintából: az első esetben 5 mikrolitert, a második esetben 10 mikrolitert. Minden más paraméter azonos volt a két esetben. A két kapott kromatogramon hogyan különbözik
 - a. egy adott A komponens retenciós ideje
 - b. az A komponens csúcsának területe (ha a detektorjel a detektoron áthaladó oldat A komponensének koncentrációjával egyenesen arányos)?
10. Egy folyadékkromatográfias vizsgálat során két anyag külön-külön injektálva azonos retenciós idő után eluálódott. El lehet-e választani ezt a két anyagot egymástól kromatográfias módszerrel? (Figyeljen a kérdés szövegezésére!)
11. A folyadékkromatográfiában kiterjedten használnak fluoreszcenciát mérő detektorokat az UV-látható tartományban. Használható-e az ilyen méréseknél eluensként víz, ill. toluol?
12. Folyadékkromatográfias oszlopot elució mérésre használunk. Az állófázis porózus szemcsékből álló töltet. Adott eluens térfogatáram mellett függ-e - és ha igen hogyan - egy anyag retenciós ideje az oszlop hosszától illetve átmérőjétől?
13. Hogy változik meg két egymás mellett eluálódó komponens retenciós ideje, ill. a két retenciós idő különbsége, ha egy HPLC oszlopon kétszeresére növeljük az eluens térfogatáramát (az összes többi paraméter változatlan marad)?
14. A folyadékkromatográfiában gyakran alkalmaznak ultraibolya spektrofotométert detektorként, úgy, hogy a mérés a kromatogram felvétele alatt végig egyetlen rögzített hullámhosszon történik. Milyen anyagok mérhetők így, milyen eluensekben? Mi a mért jel és milyen kapcsolatban van ez a jel a beinjektált (!) minta koncentrációjával?
15. Mit nevezünk ionkromatográfiának? Milyen detektort használhatunk itt? Miért?
16. Mi az ionpár képzéses HPLC? Adjon egy példát ionpár képző anyagra!
17. Mit jelent az erős ioncserélő? Mit jelent a gyenge ioncserélő? Mondjon példát erős és gyenge anion és kation cserélőkre!
18. Mi az ionkizárásos kromatográfia? Milyen anyagok meghatározására használják az ionkizárásos kromatográfiát?
19. Mennyiségi elemzésnél milyen szempontok szerint választana a kalibrációs és a belső standard módszer közül? Írja le a kalibrációs módszer lényegét a kvantitatív kromatográfias

meghatározásban! Írja le a belsőstandard módszer lényegét a kvantitatív HPLC meghatározásban! Mikor kell a mintához belső standardot adni és miért?

20. Milyen detektálási módszereket ismer a HPLC technikában? (felsorolás) Milyen hullámhossz tartományban működnek az UV és az UV-VIS detektorok?

Gyakorló feladatok

- Egy HPLC oszlopban az eluens térfogatárama $1,00 \text{ cm}^3/\text{min}$ az álló fázis térfogata $1,00 \text{ cm}^3$, a mozgó fázis $2,00 \text{ cm}^3$. Az oszlop elméleti tányérszáma a fenti térfogatáramnál 10000 . Az X komponens megoszlási hányadosa az álló fázis felé $5,00$ (az álló fázis adata van a hányados számlálójában). Számítsa ki az X komponens retenciós idejét valamint a komponens csúcsának szélességi paraméterét (σ)! (7 min; 0,07 min)
- Egy folyadékkromatográfias rendszerben két elválasztandó anyag retenciós tényezői $k_1 = 8,15$ és $k_2 = 9,25$. Legalább milyen hosszú oszlopot kell alkalmaznunk, ha alapvonal elválasztást akarunk elérni és az elméleti tányérmagasság értékét az oszlop hosszától függetlenül 15 mikrométer értéken tudjuk tartani? 3,68 cm
- Egy folyadékkromatográfias oszlop hosszúsága $15,0 \text{ cm}$, az eluens térfogatárama $0,72 \text{ cm}^3/\text{perc}$. Egy vissza nem tartott anyag csúcsának maximuma $1,18$ perccel az injektálás után jelenik meg a kromatogramon. Mekkora retenciós ideje egy $k = 4,5$ retenciós tényezőjű anyagnak? Mekkora az oszlopban a mozgó fázis térfogata? 0,85 cm^3
- Egy folyadékkromatográfias oszlop hosszúsága $15,0 \text{ cm}$. Egy A anyagnak a csúcsmaximuma $7,2$ perccel, egy B anyagnak a csúcsmaximuma $8,2$ perccel a minta beinjektálása után jelenik meg a kromatogramon. A csúcsok szélességi paramétere (σ) $5,6 \text{ sec}$. ill. $6,4 \text{ sec}$. Mekkora az adott körülmények között az oszlopon az elméleti tányérmagasság az A anyagra nézve? Megfelelő-e a két csúcs felbontása? (2,52 $\times 10^{-3}$ cm, R=2,5, tehát megfelelő)
- Egy folyadékkromatográfias oszlop hosszúsága $15,0 \text{ cm}$, a mozgófázis térfogata 2 cm^3 , térfogatárama $1 \text{ cm}^3/\text{perc}$. Egy A anyagnak a csúcsmaximuma $7,2$ perccel, egy B anyagnak a csúcsmaximuma $8,2$ perccel a minta beinjektálása után jelenik meg a kromatogramon. A csúcsok szélességi paramétere (σ) $5,6 \text{ sec}$. ill. $6,4 \text{ sec}$.
 - Számítsa ki a szelektivitási tényezőt! $\alpha=1.192$
 - Mekkora az adott körülmények között az oszlopon az elméleti tányérszám a két anyagra nézve? c. Megfelelő-e a két csúcs felbontása? $N_A=5951, N_B=5910, R_S=2.5$
- Egy megoszlásos folyadékkromatográfias elválasztásról az alábbi adatokat tudjuk: egy adott csúcs retenciós ideje $t_R = 6,0 \text{ min}$, ugyanennek a csúcsnak, mint Gauss görbének a szélességi paramétere $\sigma_t = 3,6 \text{ s}$. Egy másik csúcs retenciós ideje $6,6 \text{ min}$. Az elméleti tányérmagasság $15,0$ mikrométer.
 - Milyen hosszú az oszlop (cm-ben)? (15 cm)
 - Sikerült-e a két anyagra alapvonal-elválasztást elérni? (R= 2,38, igen)
- Egy HPLC oszlopon történő elválasztásnál két szomszédos csúcs retenciós ideje: $t_{R,A} = 6,0 \text{ min}$, $t_{R,B} = 6,6 \text{ min}$. Az A csúcsnak (mint Gauss görbének) az alapvonalon mérhető szélességi paramétere $w_A = 15 \text{ s}$. Az elméleti tányérmagasság $20,0$ mikrométer.
 - Hány cm hosszú az oszlop? (18.43 cm)
 - Sikerült-e a két anyagra alapvonal-elválasztást elérni? (R= 2,29, igen)
- Egy megoszlásos folyadékkromatográfias elválasztásról az alábbi adatokat tudjuk: az oszlop hossza $L = 10,0 \text{ cm}$, az eluens áthaladási ideje $t_0 = 1,50 \text{ min}$, az elméleti tányérmagasság $h = 10$ mikrométer, a fázisarány $V_s/V_m = 0,60$. Két elválasztandó anyag megoszlási hányadosa: $K_1 = 10$ és $K_2 = 11$.
 - Mekkora a két elválasztandó anyag retenciós ideje? (10,5 min, 11,4 min)
 - Sikerült-e alapvonal-elválasztást elérni? (igen, mivel R=2,08, vagy 2,09)

3. ELEKTROFORÉZIS

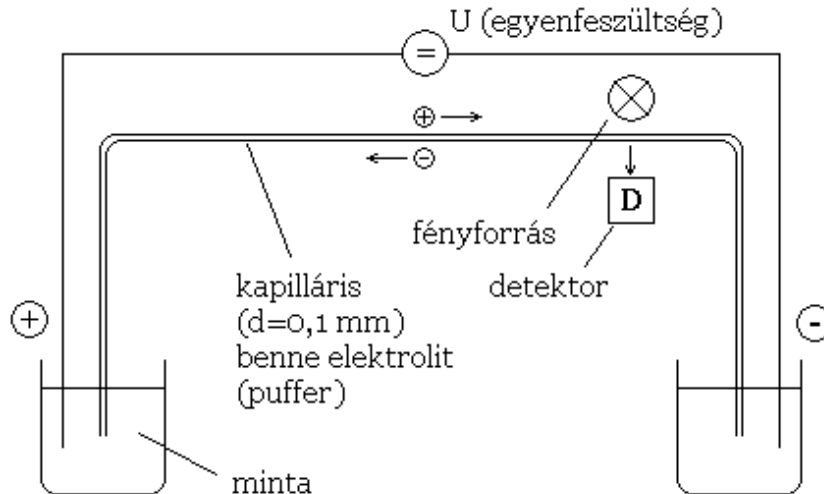
3.1. AZ ELEKTROFORÉZIS RÖVID ISMERTETÉSE

3.1.1. Működési elve

Az elektroforézis egy elválasztástechnikai módszer.

Alapja: az ionok elektromos térben való vándorlási sebessége különböző.

Mi történik az oldat belsejében, illetve az elektródok közelében? (Ld. az [Elektroanalitika fejezetet.](#))



3.1.1.1. ábra. Kapilláris elektroforézis berendezés

(A minta felirat a minta helyét mutatja, de a minta bevitelkor a feszültség nincs ráadva a rendszerre.)

Mérés menete

- A minta egy kis részletét kis túlnyomással juttatják be a **kapillárisba** (pár mm hosszú zónaként, míg a kapilláris hossza rendszerint 1 méter körüli). A kapilláris belső átmérője 50–100 mikron. Így a bejuttatott minta térfogata kb. 10 nanoliter!
- Ezután a minta helyére is **puffert** tesznek.
- Ezután U **egyenfeszültséget** alkalmaznak (pl. 30 000 V).
 - A cső egyenletes keresztmetszete miatt a térerő a cső teljes hosszában konstans:

$$E \cong \frac{U}{L_{cső}} = \text{állandó}$$

- **Kationok a detektor felé haladnak különböző sebességgel, így elválasztódnak.**

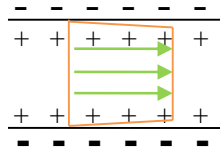
Az elválasztás alapja

Az ionok egyenes vonalú egyenletes mozgást végeznek a csőben, amely az alábbi képlettel írható le:

$$v_i = \mu_i E + v_{eof}$$

Ahol v_i : az i -dik ion egyenletes haladási sebessége,
 μ_i : az i ion mobilitása (előjeles!),
 v_{eof} : a puffer elektroosmozikus áramlási sebessége.

- A kapilláris és az oldat között is van kölcsönhatás,
 - mivel a kapilláris anyaga SiO_2 , melynek a felületén helyenként $-\text{OH}$ csoportok találhatóak,
 - ezek az $-\text{OH}$ csoportok $\text{pH} = 2-3$ fölött deprotonálódnak, és a felület negatív töltésű lesz,
 - az oldatban pedig a fal közelében pozitív ellentöltések halmozódnak fel a pufferből.
- A pozitív felületi töltésű folyadékoszlop is elkezd mozogni a negatív sarok felé (**elektroozmózis**).



3.1.1.2. ábra. A folyadékoszlop mozgása.
A zöld nyilak a sebességvektorok

- **Nincs szétkenődés**, csak minimális.
 - Nincs diszperzió, mert mindenhol ugyanakkora a sebesség.
 - Áram folyik, ami melegít, de a kapilláris jól le tudja adni a hőt (kvarc jó hővezetőképességű anyag, kapilláris \rightarrow nagy fajlagos felülettel rendelkezik \rightarrow így hatékony a hőleadás) \rightarrow nem okoz szétkenődést a termikus konvekció.
 - Közönséges diffúzió tengelyirányban: ez a fő oka a csúcsszélesedésnek, de ez lassú, különösen makromolekula analátok esetén, pl. fehérjék.

Detektor felé halad minden anyag, de különböző sebességgel.

- Általában $v_{eof} > |\mu_i E|$, ezért a negatív és pozitív töltésűek és a semlegesek is a detektor felé haladnak,
 - csak a $(-)$ töltésűek lassabban haladnak a folyadéknál,
 - a $(+)$ -ak pedig gyorsabbak a folyadéknál,
 - a semlegesek pedig mind azonos sebességgel (v_{eof}) haladnak, és ezért nem válnak el egymástól.

Az elektroforézis esetén a kromatográfiai módszerekhez hasonlóan időbeli regisztrátumot vesznek fel: **elektroferogram**.

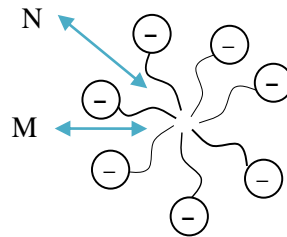
Az elektroforézis nagyon hatékony elválasztási technika, ami **makromolekulák** (kis diffúziós állandó, ezért különösen kis szétkenődés) **elválasztására is alkalmas**. Nagy a **bioanalitikai jelentősége**.

Detektorok

A HPLC-detektorok nagy része itt is alkalmazható, megfelelő technikai átalakításokkal (pl. UV-VIS, fluoreszcencia, voltametria, tömegspektrometria). Probléma: a kis méretek és mennyiségek, illetve a nagyfeszültségű rendszer jelenléte.

3.1.2. *Micellás elektrokinetikus kromatográfia (MEKC)*

A semleges molekulák az elektroosmotikus sebességgel haladnának → így nem lenne elválasztás. Ezért a kapillárisba (a pufferbe) **felületaktív anyagokat** juttatunk, amelyek **micellákat képeznek**.



3.1.2.1. ábra. Micella felépítése.

A M és N különböző mérendő semleges molekulák, melyek megkötődnek a micellában

M és N: **semleges molekulák**, melyek egy része mindig a hidrofób részben van.

Mivel a **micellák töltéssel rendelkeznek**, így azok mozognak.

Tehát M (illetve N) vagy a micella sebességével,
vagy v_{eof} -sebességgel mozog.

Így összességében a molekula ezek súlyozott átlagával halad. A semleges molekulák sebessége függ a megoszlási hányadostól, hogy milyen arányban kapcsolódik a micellához.

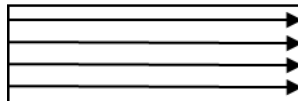
3.1.3. *Gél elektroforézis*

Kinézetre hasonló a VRK-hoz, azonban itt

pufferrel átitatott gél (rendszerint vizes pufferral készült poliakrilamid gél) lapról van szó, melynek

két végére **feszültséget kötünk**.

Ez **párhuzamos technika**, azaz egyszerre pl. akár 10 minta futtatható egyszerre.



3.1.3.1. ábra. Pufferral átitatott géllap
(rendszerint vizes pufferral készült poliakrilamid gél)

Az elválasztás befolyásolásának lehetőségei

1. Gélporozitás változtatásával, mivel a nagyobb molekulák nehezebben mozognak. A gél (polimerváz) mint egy háló gátol.
2. A puffer pH-jának folyamatos változtatásával a futtatási irányban: Ez az **izoelektromos fókuszálás módszere**. A pH változásával változik:

- a fehérjék töltéseloszlása, mert változik
 - a bázikus oldalcsoportok disszociációja,
 - a savas oldalcsoportok disszociációja.

Izoelektromos pont

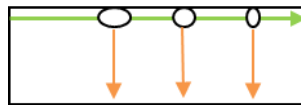
Van olyan pH, ahol a **fehérje eredő töltése nulla** → azaz itt az adott fehérje megáll → ha az addigi vándorlás során a zónája szétkenődött, itt egy szűk zónába betömörödik (= fókuszálódik).

3.1.4. SDS-PAGE: nátrium-dodecilszulfát (SDS) – poliakrilamid gél elektroforézis (PAGE)

Ha a nátrium-dodecilszulfát elég nagy koncentrációban van, **kibontja a fehérjeláncot** és ráül sok nátrium-dodecilszulfát egy-egy fehérjemolekulára. **A ráült mennyiség** (→ megszabja a töltést → azaz a sebességet) **arányos a molekula tömeggel**.

2D-GE (Kétdimenziós gélelektroforézis)

- A mérés **első lépése**: normál géllal csak a szélén futtatva.
- A mérés **második lépése**: utána nátrium-dodecilszulfáttal keresztbe futtatva.



3.1.4.1. ábra. Kétdimenziós gélelektroforézis

3.1.5. Elválasztás után a gélben lévő biopolimer foltok láthatóvá tételének lehetőségei

- Festéssel.
- Gél blotting: (blot = átítás).
Géllapról itatósszerű papírra (nitrocellulóz) átítjuk a foltokat, utána az előhívás ott történik (jelzett ellenanyaggal). Csak ott kötődik az ellenanyag, ahol az ő antigénje (ld. Immunanalitika fejezet) van.
 - Ed Southern találta ki DNS-re ezt a módszert → Southern blot módszer,
 - analóg elnevezést kapott RNS-re → Northern blot,
 - és fehérjékre is → Western blot.

Az elektroforézis nemcsak fehérjék elválasztására alkalmas, hanem számos más ionos anyaghoz is, például DNS- vagy RNS-fragmensek.

3.1.6. Kérdések és számolási feladatok*Ellenőrző kérdések*

1. Magyarázza el az elektroosztatikus áramlás jelenségét és annak jelentőségét a kapilláris elektroforézisben!
2. Fehérjéket milyen tulajdonságaik alapján és hogyan lehet elválasztani elektroforézissel?
3. Ismertesse a micelláris elektrokinetikus kromatográfiát!
4. Ismertesse az izoelektromos fókuszálási technikát!
5. Elválaszthatók-e egymástól elektroforézissel
 - a. azonos töltésszámú és előjelű ionok,
 - b. azonos izoelektromos pontú fehérjék?
6. Egy folyadékminta különböző aromás oldószerek elegye. Meghatározható-e a minta összetétele, vagyis az egyes aromák vegyületek koncentrációja
 - a. kapilláris elektroforézissel
 - b. gázkromatográfián?
7. Egy folyadékminta különböző alkánok elegye (ilyen elegy pl. a benzin). Meghatározható-e a minta összetétele, vagyis az egyes alkánok koncentrációja
 - a. kapilláris elektroforézissel
 - b. gázkromatográfián?
8. Kapilláris elektroforézis vizsgálathoz 1m hosszú kapillárist és 30 kV feszültségűt alkalmaztak és így kaptak egy mérési regisztrátumot (elektroferogram, detektorjel az idő függvényében). Később megismételték a vizsgálatot 5 kV feszültség alkalmazásával. Milyen változások történtek az elektroferogramon az előző vizsgálathoz képest? Lehetőleg rajzot és magyarázatot is adjon!
9. Elválaszthatók-e egymástól elektroforézissel különböző móltömegű ionos anyagok?
10. Elválaszthatók-e egymástól elektroforézissel különböző móltömegű, de azonos töltésszámú ionok?
11. Elválaszthatók-e egymástól elektroforézissel különböző töltésű, de azonos móltömegű ionos anyagok?
12. Elválaszthatók-e egymástól elektroforézissel különböző móltömegű ionos oligopeptidek (néhány aminosav egységből álló polimerek)?
13. Elválaszthatók-e egymástól elektroforézissel az oktán különböző izomerjei?
14. A kapilláris zónaelektroforézis módszernél a minta mely komponensei érkezik a detektorba egymástól elkülönülve (és mérhetők ezáltal külön-külön, feltéve, hogy a detektor érzékeli őket) ?
15. Hasonlítsa össze a folyadékkromatográfia és a kapilláris elektroforézis alkalmazási lehetőségeit!
16. Adja meg a kapilláris elektroforézis (CE) berendezés felépítését (ábrával és magyarázattal)!
17. Milyen detektálási módszerek használhatóak a kapilláris elektroforézisben (CE)?
18. Hogyan határozható meg anionok kapilláris elektroforézissel (CE)?
19. Meghatározható-e semleges anyagok (pl. PAH) kapilláris elektroforézissel (CE), és ha igen hogyan?
20. Mi az előnye és mi a hátránya a kapilláris elektroforézisnek (CE) a HPLC-vel szemben?

III. MŰSZERES ANALITIKA

D. IMMUNANALITIKA

Tartalom

1. Bevezető	365
1.1. Alapfogalmak	366
1.2. Az immunrendszer működése (olvasmány)	367
2. Az ellenanyag	369
2.1. Az ellenanyagok szerkezete	369
2.2. Az antigén-ellenanyag reakció egyensúlya	370
2.3. Az ellenanyagok egyedülálló tulajdonságai – az immunanalitikai módszer jellemzői ...	370
2.4. Az antigén-ellenanyag komplex szerkezete	370
2.5. Ellenanyagok előállítása analitikai célra	372
3. Antigén-antitest reakción alapuló analitikai mérések.....	376
3.1. A mérési módszerek csoportosítása.....	376
3.2. Jelölés nélküli technikák.....	376
3.3. Jelölt immunreagenst használó mérések – immunoassay-ek	380
4. Mennyiségi meghatározás immunoassay-ekkel	392
4.1. Kalibráció	392
4.2. Immunoassay-ek a gyakorlatban	393
5. Ellenőrző kérdések	398

1. BEVEZETŐ

Az analitikus nagyon gyakran olyan feladattal áll szemben, amikor egy bonyolult, összetett, akár több ezer komponenst tartalmazó mintából kell egy nagyon kis koncentrációban jelen lévő anyagot meghatározni (pl. vérmintából egy pajzsmirigyhormont, mézből egy adott antibiotikumot, talajmintából növényvédőszer-maradványt stb.). Ehhez a problémához kétféle módon közelíthet:

- valamilyen nagyhatékonyságú elválasztástechnikai módszerrel (pl. HPLC, GC) a mintát megfelelő mintaelőkészítés után komponenseire bontja és a meghatározandó komponenst méri; vagy
- szelektíven kiválasztja az adott komponenst a mintából, majd méri.

Ez utóbbi megközelítésmód általában egyszerűbb, nem igényel drága és bonyolult műszerezettséget és hosszadalmas mintaelőkészítést. Szükség van viszont egy olyan anyagra, amely az adott mintaalkotót nagy szelektivitással képes megkötni. Mivel a természet már kifejlesztett számos ilyen anyagot, legegyszerűbb ezeket „kölcsonvenni” és ezeket használni az analitikában. Ilyen biológiai eredetű, szelektív megkötésre képes molekulák az

- **enzimek:** fehérjemolekulák, amelyek szelektíven komplexet képeznek valamely molekulával és katalizálják (általában felgyorsítják) ennek kémiai átalakulását. Olyan átalakulást hoznak létre, ami termodinamikailag lehetséges, de magától nagyon lassan menne végbe, az enzimek tehát katalizátorként viselkednek az élő szervezetekben.
- **Ellenanyagok (más néven antitestek):** olyan fehérjék, amelyek szelektíven, nagy stabilitási állandójú komplexet tudnak képezni valamely molekulával. Magasabb rendű élő szervezetek védekező funkciójában vesznek részt.

FIGYELEM: a fejezetben az ellenanyag és antitest kifejezéseket felváltva fogjuk használni, mivel a szakirodalomban és a szakmai szóhasználatban mindkettő egyformán elterjedt.

- **Receptorok:** a sejtmembránba vagy citoplazmába beépült fehérjemolekulák, amelyek szelektíven kötnek egy ligandumot (kisméretű molekulát pl. peptidet, hormont, gyógyszert, toxint), és ennek hatására megváltozik a konformációjuk, térbeli szerkezetük. A konformációváltozás a sejtben valamilyen biológiai folyamatot indít el. A receptorok szabályozzák a szervezet életfolyamatait.
- **DNS-/RNS-szálak:** A komplementer DNS-, vagy RNS-szálat szelektíven megkötik (hibridizáció).

Az immunanalitikai módszerek (idegen szóval immunoassay-ek) egy speciális reakciót, az élő szervezetekben is lejátszódó, rendkívül szelektív antigén-antitest reakciót használják ki arra, hogy a mintából a meghatározandó anyagot kiválasszák, majd valamilyen módszerrel (pl. spektrofotometriásan, fluoreszcencia méréssel, radioaktív izotópos méréssel) detektálják.

Előnyük, hogy egyszerűek, nem igényelnek drága műszerezettséget, egyszerű, vagy nem is szükséges mintaelőkészítés. Sokszor a helyszínen elvégezhető velük a mérés, ami előnyt jelent pl. környezetvédelmi elemzéseknel, orvosi diagnosztikai méréseknel, mert nem kell a mintát központi laboratóriumba szállítani és ezáltal sokkal gyorsabban kaphatunk eredményt.

Fő alkalmazási területeik

- Orvosi diagnosztika (pl. vírusok, baktériumok, hormonok, tumormarkerek², szívmarkerek³ mérése),
- gyógyszeranalitika (pl. gyógyszer szint meghatározások, gyógyszer kutatás),
- toxikológia (kábitószer-, doppinganalitika),
- környezetvédelmi analitika (növényvédőszer, növényi hormonok meghatározása),
- élelmiszeranalitika (pl. mikotoxinok⁴, prionok⁵, biogén aminok⁶, alkaloidok kimutatása).

1.1. ALAPFOGALMAK

Immunoassay: az antigén és ellenanyag (antitest) reakcióján alapuló analitikai módszer.

Antigén: a szervezetben immunválaszt kiváltó anyag (pl.: vírus, baktérium, pollen az allergiások számára, idegen egyedből származó ellenanyag, sejt, szövet, fehérje). Jellemzője a nagy méret, pár ezer Dalton molekulatömeg alatti anyagok nem váltanak ki immunválaszt.

Ellenanyag (antitest): az immunrendszer által termelt fehérje, mely az antigénhez kapcsolódva, elősegíti annak eltávolítását a szervezetből.

Haptén: kisméretű molekula, csak nagy molekulához, hordozóhoz (pl. fehérje) kötve vált ki ellenanyag-termelést (pl. egy gyógyszer molekula).

Epitóp: az antigén azon része (molekulacsoportja), amellyel az ellenanyaghoz kötődik.

Immunválasz: a növények és állatok immunrendszerének összehangolt működése a szervezetbe bejutó idegen anyagok (antigének) felismerésére és eltávolítására. Az összes növény és állat rendelkezik **természetes, veleszületett immunitással**, amely a kórokozók behatolására azonnali, nem specifikus immunválaszt ad, vagyis válogatás nélkül képes a veszélyesnek felismert kórokozók leküzdésére. A magasabb rendű szervezetek (állkapcsos gerincesek) rendelkeznek specifikus védekezésre képes ún. **adaptív immunrendszerrel** is. Ez a születés után alakul ki és fejlődik, és többek között az analitikai szempontból fontos antitestek termelésében játszik szerepet a következőképpen: a behatoló antigénnek megfelelő ellenanyag-termelésére képes sejtek a felszínükön megkötik az antigént. Ez indukálja ezekben a sejtekben az ellenanyag termelődését. Az ellenanyag aztán antigénhez kötődve soklépcsős bonyolult folyamatot indít el, melynek révén a szervezet elpusztítja a behatolót.

² A daganatos sejtek felszínén található, az adott daganattípusra jellemző molekulák (pl. glikoproteinek). Ezek leszakadva a vérkeringésbe kerülnek és ott már nagyon kis koncentrációban detektálhatóak. A tumormarkerek biztos tumordiagnózisra korlátozottan alkalmasak, mert nem teljesen specifikusak a különböző daganattípusokra, és más kóros állapotokban is felszaporodhatnak, de felvetik a tumor gyanúját, ami további vizsgálatokkal igazolható. Továbbá ha egy daganatos betegben magas tumormarkere szintet találtak, akkor annak mérése a kezelés során mutathatja, hogy mennyire volt hatékony pl. a daganat sebészeti eltávolítása.

³ A szívinfarktushoz az elhalt sejtekből kiszabaduló molekulák, melyek méréséből a szívizom elhalására, és annak mértékére következtethetünk (pl. troponin fehérje).

⁴ Penészgombák által termelt toxinok.

⁵ Elsődlegesen fehérjéből álló fertőző anyagok (pl. a kergemarhakór okozója).

⁶ Az élelmiszerekben levő aminosavak mikrobiológiai bomlásának termékei, allergiás reakciót okozhatnak. Ilyen pl. a tiramin, amely a tirozin aminosav dekarboxileződésével jön létre. (A szervezetben is termelődnek biogén aminok (endogén biogén aminok), nem csak romlott élelmiszerekben.)

B-sejt: a nyirokrendszerben és a csontvelőben termelődő és fejlődő sejtek, melyek az ellenanyagokat termelik. Egy adott B-sejt és annak utódai mindig ugyanazt az ellenanyagot szintetizálják.

Autoimmun betegség: a szervezet a saját anyagait, építőköveit idegennek ismeri fel és elpusztításukra törekszik, pl. antitesteket (autoantitestek) termel ellenük.

Immunizálás: kísérleti állatba (pl.: nyúl) beviszik az immunválaszt kiváltó anyagot (antigén), az állat ellenanyagot termel, amit kinyerve immunoassay-hez felhasználhatnak.

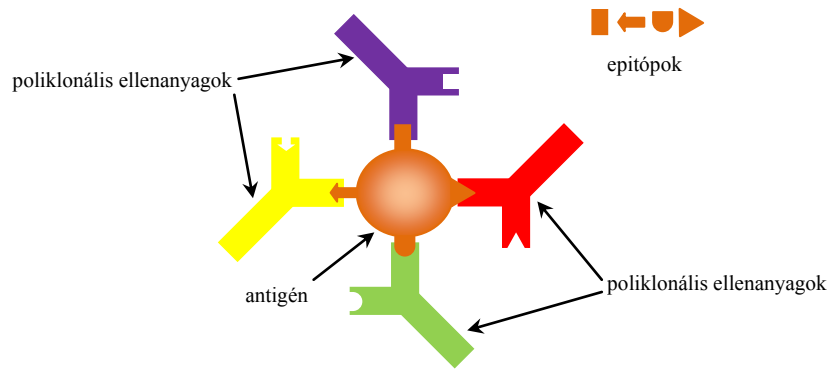
1.2. AZ IMMUNRENDSZER MŰKÖDÉSE (OLVASMÁNY)

Az ember és sok más élőlény védekezik a szervezetébe bejutó idegen anyagok ellen. A védekezés egyik módja, hogy a szervezet a vérkeringésbe jutó idegen anyagokat lebontja és/vagy kiválasztja. Ez a kisméretű molekulák esetén általában a vesén és a májon keresztül történik. A nagyméretű molekulákat, baktériumokat, vírusokat, melyeket összefoglalóan antigéneknek nevezünk, általában az immunrendszer (http://en.wikipedia.org/wiki/Immune_system) távolítja el.

A védekezési mechanizmus (immunválasz) első lépéseként a szervezetnek fel kell ismerni az idegen anyagokat. A szervezetbe lépő új antigén első „ellenőrzését” a természetes (veleszületett) immunitás végzi (http://en.wikipedia.org/wiki/Innate_immune_system), a rendkívül specifikus adaptív immunitás (http://en.wikipedia.org/wiki/Adaptive_immune_system) valamivel később alakul ki (lásd alább). A specifikus immunválasz két, egymással szorosan kapcsolódó úton halad. Az egyik az ún. sejtközvetített immunválasz (http://en.wikipedia.org/wiki/Cell-mediated_immunity), amelynél többek között specifikus T-sejtek játszanak közvetlen szerepet az antigén elpusztításában. A másik az ún. humorális immunválasz (http://en.wikipedia.org/wiki/Humoral_immunity), amelynél elsősorban antitestek végzik ezt a feladatot. Előbbi az intracelluláris (sejten belüli) patogének, tumorsejtek és idegen szövetek ellen jelent hatékony védekezést, míg utóbbi az extracelluláris antigének (baktériumok és termékek) ellen.

A humorális immunválasz során az antitesteket a nyirokrendszerben és a csontvelőben termelődő és fejlődő B-sejtek termelik. Ezeknek egymilliárd kissé különböző változata van, amelyek genetikusan kódoltak. Mindegyik változat másik ellenanyagot termel, ennek megfelelően rendkívül sok különböző antigént képes felismerni a szervezet. Egy fajta B-sejt mindig ugyanazt az ellenanyagot termeli. Felszínén egy receptor van, ez maga az antitest, amit termelni képes. Alapállapotban a B-sejtek a vérben cirkulálnak, akár a járőrök, és nem termelnek ellenanyagot. Amikor a szervezetbe bejut egy adott típusú antigén, az bonyolult folyamatokon keresztül beindítja a megfelelő ellenanyagot hordozó B-sejt szaporodását és az ellenanyag-termelést. Mivel az antigének nagyméretűek, a felszínükhöz többféle ellenanyag is kapcsolódhat. Azt a részüket, ahol az ellenanyaghoz kapcsolódnak epitópnak nevezzük. Mivel többféle B-sejt is termel ellenanyagot ugyanarra az antigénre (a különböző epitópokra), így az immunválasz poliklonális⁷ (1.2.1. ábra).

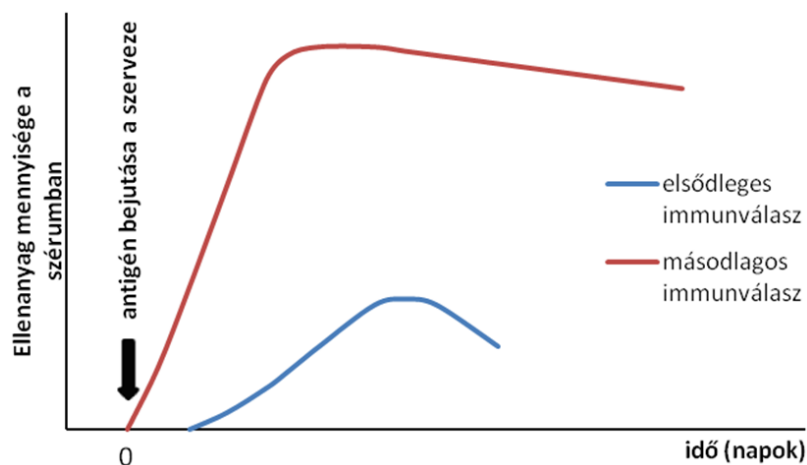
⁷ Klón = teljesen azonos sejtek csoportja.



1.2.1. ábra. Az antigén különböző részeire – epitópjaira – szelektív antitestek.

Az egészen kicsi molekulák önmagukban nem váltanak ki immunválaszt, ellenanyag-termelést, csak ha nagy méretű hordozóhoz pl. fehérjéhez kötik őket.

Az idegen anyag által kiváltott ellenanyag-termelés viszonylag lassan, néhány nap alatt indul be, ha a szervezet először kerül kapcsolatba az adott anyaggal (elsődleges immunválasz). Ha viszont korábban már találkozott az anyaggal, akkor az ellenanyag-termelés gyorsan beindul (másodlagos immunválasz). Az alábbi ábrán az elsődleges és másodlagos immunreakció során termelődött ellenanyag mennyiségét ábrázoltuk az eltelt idő függvényében. A másodlagos immunválasz nem csak hogy gyorsabban beindul, de jóval több ellenanyag is termelődik, és ez az ellenanyag szint jóval tovább fennmarad, azaz az immunválasz sokkal hatékonyabb.



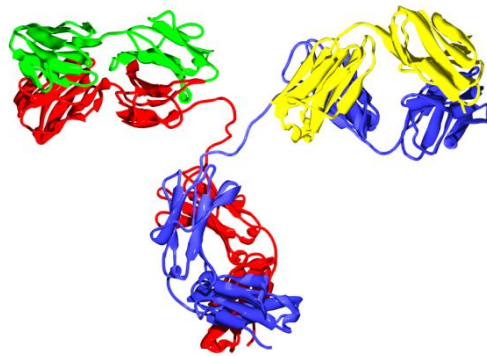
1.2.2. ábra. Az immunválasz kinetikája

Ez abból adódik, hogy az első találkozás során az adaptív immunrendszer megtanulja felismerni az adott antigént. A B-sejtekből és a T-sejtekből úgynevezett memóriasejtek is képződnek, és így a szervezet emlékszik arra, hogy mely B-sejteket kellett már korábban nagy mennyiségben termelni. Ezt az emlékezést és a vele párosuló gyors védekezést az oltásokkal elősegíthetjük. Ilyenkor elölt, fertőzőképtelen kórokozók, vagy azok egy részének szervezetbe juttatásával indukáljuk az elsődleges immunválaszt és a tanulási folyamatot.

2. AZ ELLENANYAG

2.1. AZ ELLENANYAGOK SZERKEZETE

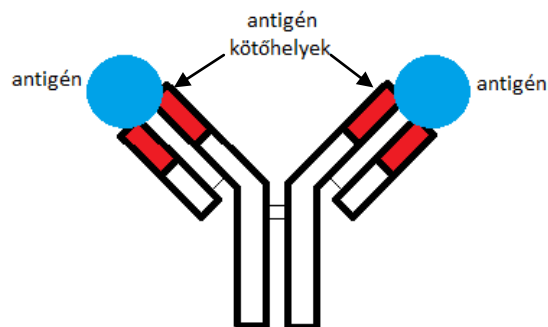
Az ellenanyagok speciális, Y-ra emlékeztető fehérjék (immunglobulinok), melyekben az egyes polipeptid láncokat diszulfidhidak kötik össze. A 2.1.1. ábrán a kék és piros láncok a nehéz láncok (kb. 55 000–70 000 Da molekulatömeggel), a zöld és sárga fehérjeláncok a könnyű láncok (kb. 24 000 Da). A teljes móltömeg kb. 150 000 Da. Vannak olyan ellenanyag-típusok is, melyekben 2, 3, vagy akár 5 ilyen Y egység kapcsolódik össze egyetlen molekulává. A nehézláncok alapján emberben megkülönböztetünk ötféle immunglobulin osztályt, melyek különböző szerepet töltenek be az immunválasz során. Könnyűláncból kétféle van.



http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a9/Antibody_IgG2.png

2.1.1. ábra. Az ellenanyag szerkezete

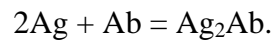
A 2.1.2. ábra az ellenanyagok nagyon leegyszerűsített szerkezetét mutatjuk be. A különböző ellenanyag-molekulák alsó részén az aminosavsorrend nem mutat nagy változékonyságot (konstans régió: fehérrel jelölt rész). Ezzel szemben a pirossal jelölt felső részekben az aminosav sorrend rendkívül nagy változékonyságot mutat a különböző ellenanyag-molekulákban. Ezt a részt hívják variábilis régióknak, és itt történik az antigének kötése. Ez variabilitás az alapja annak, hogy óriási számú antigénre létezik azt megkötő, szelektív ellenanyag (kb. 10^9 féle). Minden Y egységen két szerkezetileg teljesen azonos antigénkötőhely van. Ezek közül sztérikus okok miatt gyakran csak az egyikhez kapcsolódik antigén.



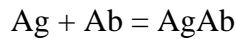
2.1.2. ábra. Az antitestek leegyszerűsített szerkezete

2.2. AZ ANTIGÉN-ELLENANYAG REAKCIÓ EGYENSÚLYA

Az ellenanyag és az idegen anyag közötti reakció egyensúlyi reakció. Az ellenanyagot Ab-vel (antibody), az immunreakciót kiváltó idegen anyagot Ag-vel (antigen) jelölve:



Hagyományosan azonban nem így írják le a reakciót, hanem



formában, vagyis a két egyforma kötőhely közül csak az egyikre vonatkozóan. Ez annyiban jogos, hogy a két kötőhely általában egymástól függetlenül és egyforma egyensúlyi állandóval reagál, illetve, amint már említettük, sztérikus okok miatt van olyan eset is, hogy csak az egyik kötőhely köt. Eszerint az egyensúlyi állandó:

$$K = \frac{[AgAb]}{[Ag][Ab]}$$

Az egyensúlyi állandó széles határok közt változik a különböző antigén-antitest párok esetén, $10^5 M^{-1}$ és $10^{12} M^{-1}$ között, ami azt jelenti, hogy a képződő komplexek nagyon stabilak, illetve hogy a reakció nagyon híg oldatban is a komplexképződés irányába lehet eltolva.

2.3. AZ ELLENANYAGOK EGYEDÜLÁLLÓ TULAJDONSÁGAI – AZ IMMUNANALITIKAI MÓDSZER JELLEMZŐI

Az immunanalitikai módszerek, mint azt a fejezet elején említettük, rendkívül nagy szelektivitással rendelkeznek. Emellett fontos tulajdonságuk a nagyon alacsony kimutatási határ, azaz képesek bonyolult mintákban akár 10^{-21} mólnyi mennyiségű anyagot kimutatni. Emellett rendkívül sokféle anyag mérésére alkalmasak. Mindezen kedvező paraméterek az ellenanyagok egyedülálló sajátosságain alapulnak. Lássuk, milyen sajátosságok teszik lehetővé a kedvező analitikai paramétereket.

Az immunoassay-ek:

- **nagyszámú anyag meghatározására alkalmasak,** mivel a szervezetben nagyon nagyszámú különböző antitest termelődik, és ezek mind különböző anyagokhoz képesek kötődni (kb. 10^9 féle antigént képesek felismerni), tehát a megfelelő ellenanyagok előállításával ezeket mérni is tudjuk.
- **Szelektívek,** mert rendkívül specifikus a kötődés, egy adott ellenanyag csak a neki megfelelő antigénhez képes erősen kötődni.
- **Alacsony a kimutatási határuk,** mert nagyon erősen kötődik az ellenanyag a megfelelő antigénhez, így még nagyon híg oldatokban is képes megkötni azt.

Most pedig azt fogjuk megvizsgálni, hogy mi a szerkezeti alapja ezeknek a sajátosságoknak.

2.4. AZ ANTIGÉN-ELLENANYAG KOMPLEX SZERKEZETE

Az antigén-ellenanyag kölcsönhatás rendkívüli szelektivitásának és erősségének a kémiai alapja a következőkben keresendő.

- **Az antigén az ellenanyaghoz másodlagos kötőerőkkel kapcsolódik**

Az ellenanyag a neki megfelelő antigénnel komplexet képez. Ez a komplex azonban, eltérően a klasszikus titrálásoknál előállított fémion-EDTA komplextől, nem kovalens kötésen alapul, hanem másodlagos kémiai kötőerőkkel (Coulomb erők, H-híd, van der Waals erők, hidrofób kölcsönhatás) jön létre. Az ellenanyag variábilis régiójában, az antigénköti zsebben, a különböző aminosav funkció csoportok az antigén megfelelő funkció csoportjaival kapcsolódnak.

- **Sok ponton való kapcsolódás – alacsony kimutatási határ**

Tudjuk, hogy a másodlagos kémiai kötések sokkal gyengébbek, mint a kovalens kötések. Miért stabilak mégis az immunkomplexek? A magyarázat egyszerű: mivel nem egy, hanem egyszerre sok ponton történik a kapcsolódás, ezért a létrejött komplexnek nagyon nagy a stabilitási állandója ($K=10^5-10^{12} \text{ M}^{-1}$, hasonló nagyságrendű, mint a fémion-EDTA komplexekben).

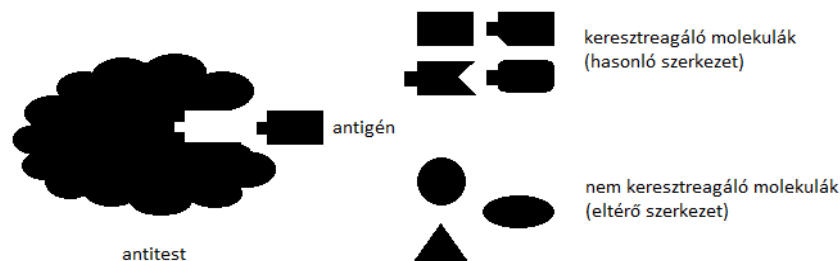
Ez analitikai szempontból azt jelenti, hogy már kis minta (antigén) koncentráció esetén is megkötí az ellenanyagunk a mérendő antigént, vagyis a kimutatási határ alacsony.

- **Csak rövid távon létrejövő gyenge kötőerők**

A másodlagos kötőerők csak rövid távon hatnak, tehát ahhoz hogy az ellenanyag egy adott molekulával sok ponton tudjon kapcsolódni, a kapcsolódó csoportoknak megfelelő közelségbe kell kerülni. A molekulának tehát az antigénköti zsebbe pontosan illeszkednie kell, mind térbelileg, mind funkció csoportok szempontjából.

- **Pontos térbeli komplementaritás (kulcs-zár illeszkedés) – nagy szelektivitás**

Emiatt az ellenanyag gyakorlatilag csak egyféle molekulával, a neki megfelelő antigénnel tud nagyon erősen komplexálódni. Ha egy molekula „csak” hasonló az antigénhez, már sokkal gyengébb lesz a kialakult komplex. Ezt hívják keresztreakciónak (2.4.1. ábra). A legtöbb molekula annyira eltér az antigéntől, hogy az ellenanyaggal egyáltalán nem képez komplexet. Ez a kiemelkedő szelektivitás szerkezeti oka.



2.4.1. ábra. A „kulcs a zárban” illeszkedés

PÉLDA

Ez a „kulcs a zárban” illeszkedés a biológiai rendszerekben előfordul máshol is, pl. a receptor-ligandum kölcsönhatásoknál. A legerősebb ismert fehérje-ligandum kölcsönhatás, a kisméretű biotin molekula és az avidin nevű fehérje kapcsolódása ($K = 10^{15} \text{ M}^{-1}$). Ennél a komplexnél a tudósok kiderítették, hogy a fehérjeláncban mely pontokon történik a kapcsolódás (2.4.2 ábra).

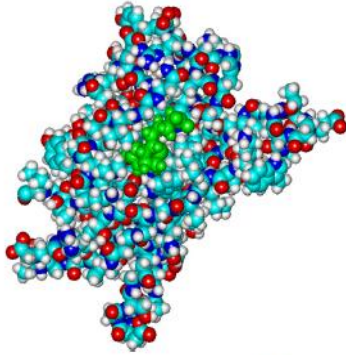


Fig. 1. The complex between streptavidin and biotin, with biotin highlighted in green.

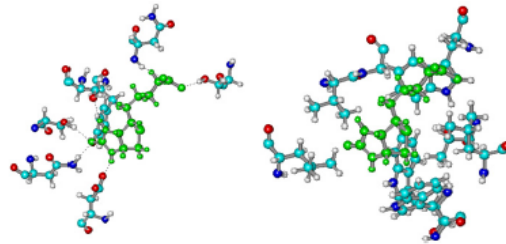


Fig. 2. Left: The hydrogen bonds formed between biotin and streptavidin residues Asn 23, Ser 27, Tyr 43, Ser 45, Asn 49, Ser 88, and Asp 128. Right: The van der Waals interactions between biotin and streptavidin residues Leu 25, Val 47, Gly 48, Trp 79, Thr 90, Trp 92, Trp 108, and Leu 110.

2.4.2 ábra. A biotin kapcsolódása az avidin különböző aminosav csoportjaihoz az avidin-biotin komplexben (Hansen D. E., *Biomaterials*, 28 (2007) 4178–4191)

Megállapították, hogy a biotin és az avidin között 15 ponton lépnek fel másodlagos kötőerők.

2.5. ELLENANYAGOK ELŐÁLLÍTÁSA ANALITIKAI CÉLRA

Ahhoz, hogy az immunreakciót analitikai célra tudjuk használni, elő kell állítani a mérendő molekulákra (antigén) szelektív ellenanyagot. Ez többféle módon történhet:

2.5.1. Poliklonális ellenanyag előállítása

Poliklonális ellenanyagot legegyszerűbben valamilyen állat immunizációjával készíthetünk. Az állat kiválasztása általában a mérete alapján történik. Attól függően, mennyi ellenanyagot akarunk előállítani, kisebb vagy nagyobb állat szükséges (patkány, egér, tengerimalac, nyúl, kecske, birka, ló stb.). A makromolekuláris antigént beadják az állatba, egy hét múlva adnak egy emlékeztető oltást. Pár hét múlva már sok ellenanyagot tartalmaz a vér. Ilyenkor vért vesznek és lecentrifugálva az alakos részeket, a vérszérumot alkalmazzák, vagy tisztítással kinyerik az antitesteket.

Ez ellenanyag-keverék lesz, ún. **poliklonális ellenanyag**, mivel az antigén különböző epitópjaira más-más ellenanyag fog termelődni. Fontos megjegyezni, hogy gyakorlatilag lehetetlen kétszer ugyanolyan összetételű poliklonális ellenanyag-keveréket előállítani, mert az összetétel még ugyanannak az állatnak különböző időben levett szérumaiban is különböző.

Jellemzői

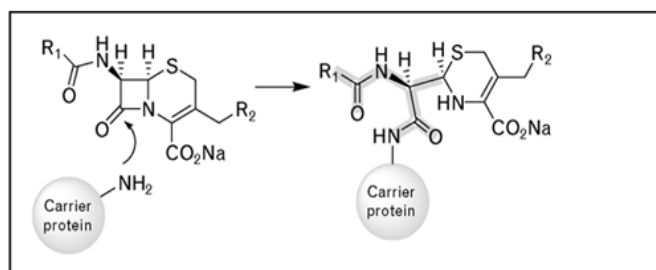
- több klónból (sejtből) származnak,
- egyetlen antigén több epitópjához kötődnek.

Emiatt:

- gyakori a keresztreakció (kevésbé szelektív) ☹,
- erős az immunkomplex ($K > 10^{10} \text{ M}^{-1}$),
vagyis nagyon alacsony kimutatási határ érhető el ☺,
- véges mennyiségben állítható elő ☹.

Immunreakciót csak makromolekuláris antigénnel lehet kiváltani; ha kis molekulákat juttatunk a vérbe nem képződik rájuk ellenanyag, annak ellenére sem, hogy az ellenanyag a makromolekuláris antigéneknek is csak egy-egy kicsi felületi részletével (néhány egymáshoz közeli funkcióscsoporttal) reagál. Hogyan lehet mégis analitikai célra, kis molekulák méréséhez ellenanyagot készíteni?

Ha kis molekulák meghatározásához akarunk ellenanyagot nyerni, akkor valamilyen nagyméretű hordozóhoz, pl. egy nagyméretű fehérjéhez kell előbb kovalensen hozzákötni a kis molekulát (2.5.1.1. ábra). A gyakorlatban egy-egy fehérjemolekulára a kis molekulából nem egy darabot kötnek, hanem kb. százat. Ezt az eljárást nevezik konjugálásnak. Az így kapott anyaggal az állat már immunizálható és a képződött poliklonális ellenanyagok között lesz olyan is, amely a kis molekulára lesz szelektív.



2.5.1.1. ábra. Kisméretű molekula kovalens kapcsolása hordozó fehérjéhez

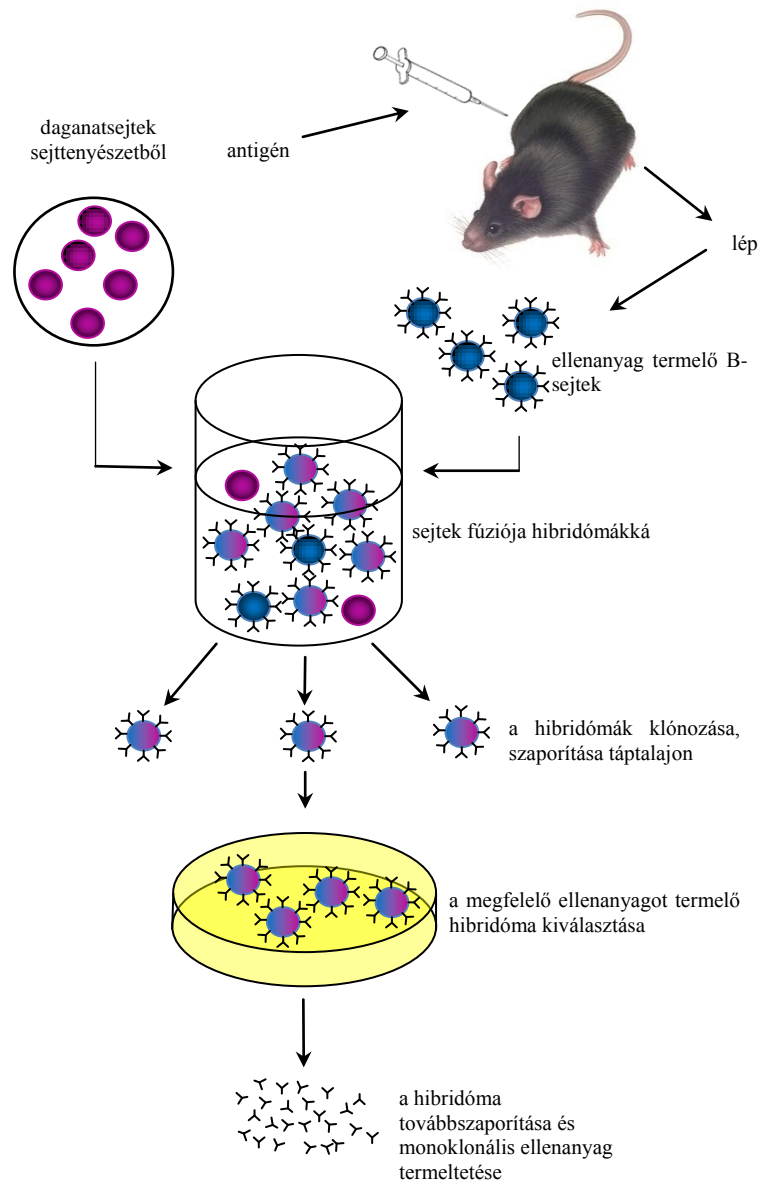
2.5.2. Monoklonális ellenanyag előállítása

Az immunizálással nyerhető poliklonális ellenanyagok hátrányainak (nem megfelelő szelektivitás és véges mennyiség) kiküszöbölésére egy új biokémiai technikát ún. hibridóma technikát fejlesztett ki Köhler, Milstein 1975-ben. Munkájukért 1984-ben Nobel-díjat kaptak.

A technika elve a következő:

A különböző B-sejtek által termelt különböző ellenanyagok közül rendszerint nem csak egy képes reagálni az idegen anyaggal. Az egyes reagálni képes ellenanyagok pedig nem egyforma módon és erősséggel (egyensúlyi állandóval) kötik az idegen anyagot. Ha viszont a sikeresen védekező B-sejtek közül egyet elkülönítünk, és ezt szaporítjuk, akkor ennek az utódai mind ugyanazt az ellenanyagot termelik. Egyetlen sejt csupa egyforma utódját klónnak nevezik, az ilyen sejtek által termelt ellenanyag-molekulák monoklonálisak.

A gyakorlatban a monoklonális ellenanyag előállítása ugyanúgy egy állat (egér) immunizálásával kezdődik, mint a poliklonális ellenanyag-termelés (2.5.2.1. ábra). Ezután az állat lépéből kinyerik a benne található, ellenanyag termelő B-sejteket. Mivel ezek önmagukban *in-vitro* körülmények között nem szaporíthatók, „összeolvasztják”, fuzionáltatják őket speciális tumorsejtekkel. Az így kapott sejtek a hibridómák, amelyek egyrészt jól szaporodnak táptalajon (a daganatsejt ős miatt) és ellenanyagot képesek termelni (a B-sejt ős miatt). Ezeket egyesével szétválogatják és táptalajon kezdik szaporítani, majd megnézik, hogy melyik tenyészet termeli a számunkra megfelelő ellenanyagot. Ezt kiválasztják és a sejtvonalat akár a végtelenségig fenntartva, termeltetik a monoklonális ellenanyagot.



2.5.2.1. ábra. A monoklonális ellenanyagok előállítása

Jellemzők

- egyetlen klónból származnak,
- egyetlen antigén egyetlen epitópjához kötődnek.

Emiatt:

- ritka keresztreakció (nagyon szelektív) ☺,
- viszonylag gyenge komplex ($K=10^5-10^7 \text{ M}^{-1}$), vagyis viszonylag magas a kimutatási határ ☹.

2.5.3. Rekombináns ellenanyagok

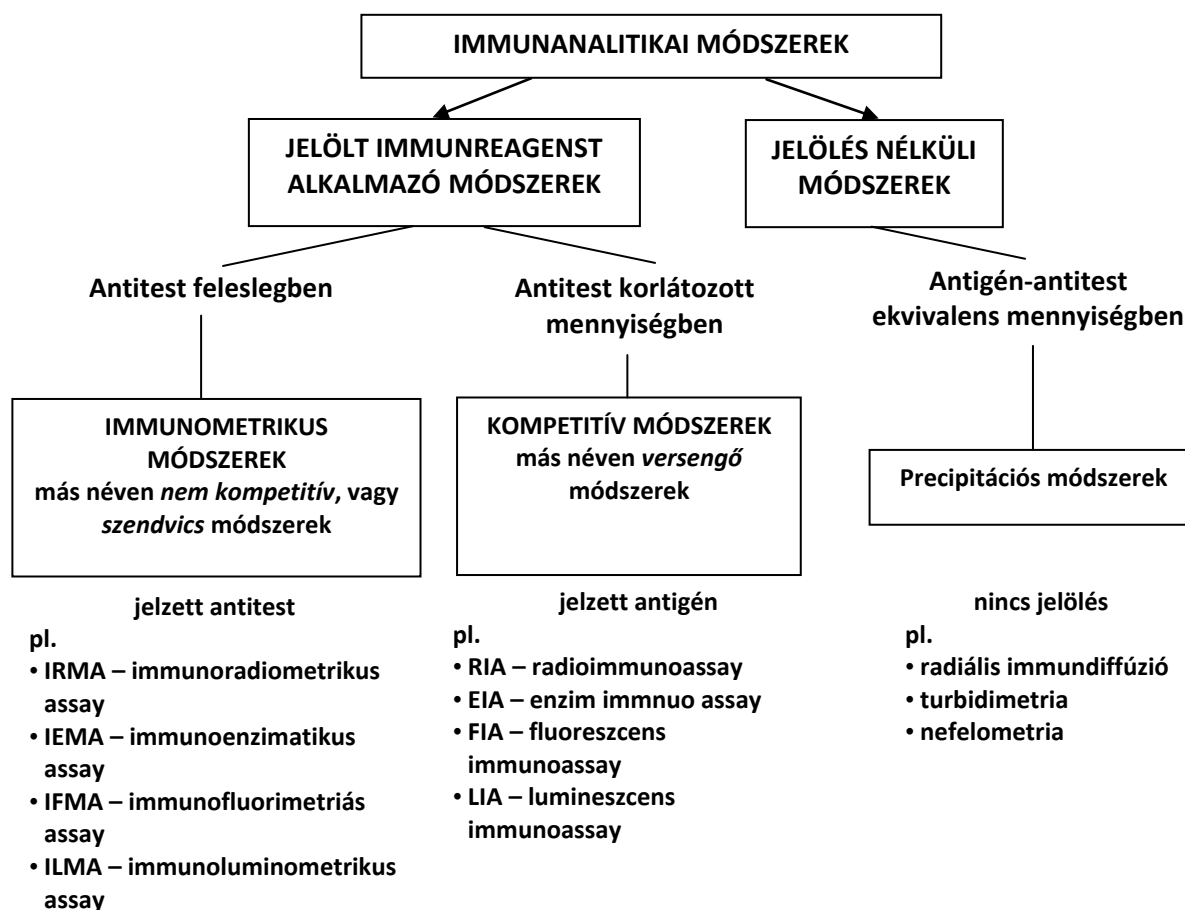
Rekombináns antitesteket, más néven szintetikus antitesteket ma már laboratóriumban előállított, vagy emberi sejtekből kinyert antitest gének segítségével is elő lehet állítani, teljesen kihagyva az állatokat az ellenanyag-termelésből. Ezeket az antitesteket ugyanúgy lehet immunoassay-ekben használni, mint a poliklonális, vagy monoklonális antitesteket, de ezen felül még humán gyógyászati célra is alkalmasak. A molekuláris biológiai technológia elve nagyon leegyszerűsítve a következő: antitesteket

kódoló génkönyvtárakat mikroorganizmusokba juttatnak, melyek ennek a hatására elkezdnek antitesteket termelni. Ezekből a megfelelő szelektivitásúakat kiválasztják, majd a megfelelő gént is kiválasztják. Most már csak ezt az egy gént viszik be megfelelő mikroorganizmusokba, melyek ettől kezdve a megfelelő szelektivitású antitestet állítják elő. Az így előállított antitestek kiküszöbölik a poliklonális és monoklonális antitestek hátrányait, vagyis egyszerre nagyon szelektívek és nagy affinitásúak ($K \geq 10^{11} \text{ M}^{-1}$) ☺☺. Ez a technika használható pl. akkor is, ha természetes úton esélytelen lenne létrehozni a kívánt ellenanyagot (pl. ha a meghatározandó anyag toxikus, így nem lehet vele beoltani kísérleti állatokat ellenanyag-termeltetés céljából). Az analitikai módszernek olykor jobban megfelelő antitest fragmentumok, illetve származékok is előállíthatók ilyen módon.

3. ANTIGÉN-ANTITEST REAKCIÓN ALAPULÓ ANALITIKAI MÉRÉSEK

3.1. A MÉRÉSI MÓDSZEREK CSOPORTOSÍTÁSA

Az antigén-antitest reakción alapuló analitikai mérések nagyon sokféle szempont alapján csoportosíthatók, itt két nagy csoportba soroljuk őket az alapján, hogy alkalmaznak-e az antitesten és az antigénen kívül más jelölt reagenst, vagy sem. E két fő csoporton belül az egyes módszerek között még lényeges különbségek vannak a reagáló antitestek és antigének egymáshoz képesti mennyiségében (3.1.1. ábra).



3.1.1. ábra. Az immunanalitikai módszerek lehetséges csoportosítása

3.2. JELÖLÉS NÉLKÜLI TECHNIKÁK

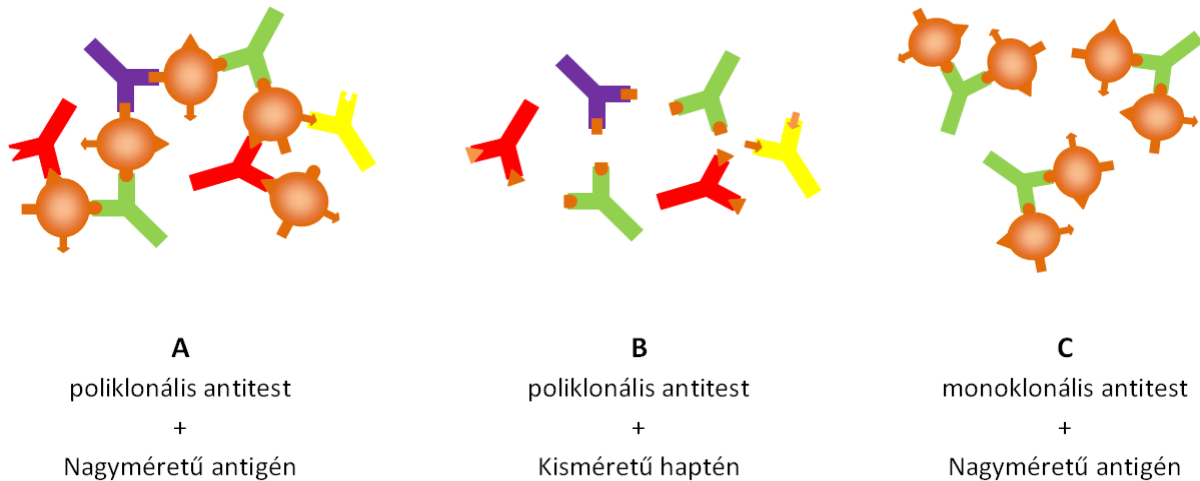
Ezeken a módszereken belül találhatóak a legrégebbi kvantitatív immunanalitikai módszerek, ahol az antitestet és antigént közel ekvivalens mennyiségben reagáltatjuk és a legújabb, jelölésmentes immunoszenzorok.

3.2.1. Antigén-antitest ekvivalencián alapuló módszerek

Az antigén-antitest reakció csapadékképződéshez vezet, ha poliklonális az ellenanyag (ellenanyag-keverék, mely az antigén több különböző epitópjával képes reagálni) és nagyméretű az antigén. Ilyenkor a molekulák nagyobb aggregátumokat, precipitátumot képeznek, amely az oldatból kiválik (lásd 3.2.1.1. ábra/A ábra).

Ez a reakció gélekben⁸ is lejátszódik, és mennyiségi meghatározást tesz lehetővé.

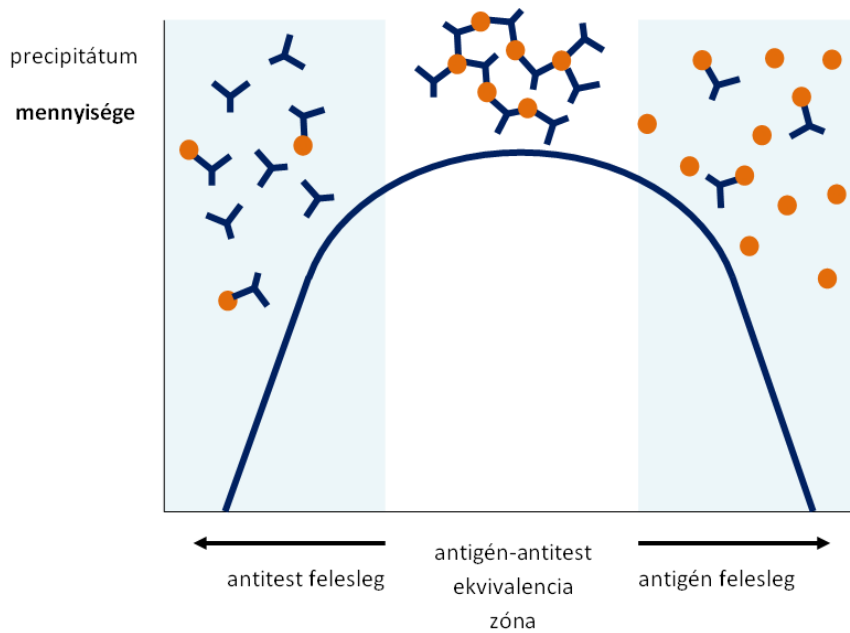
Nem következik be ez a jelenség, ha poliklonális antitest hapténnel reagál (a kisméretű hapténhez csak egy antitest tud kapcsolódni sztérikus okok miatt), illetve ha monoklonális az antitest, mert csak egy ponton ismeri fel az antigént, tehát itt is csak egy antitest kötődik az antigénhez és nem tud kialakulni térhálós szerkezet. (3.2.1.1. ábra/B és C ábra).



3.2.1.1. ábra. Az antitestek reakciója oldható antigénekkkel

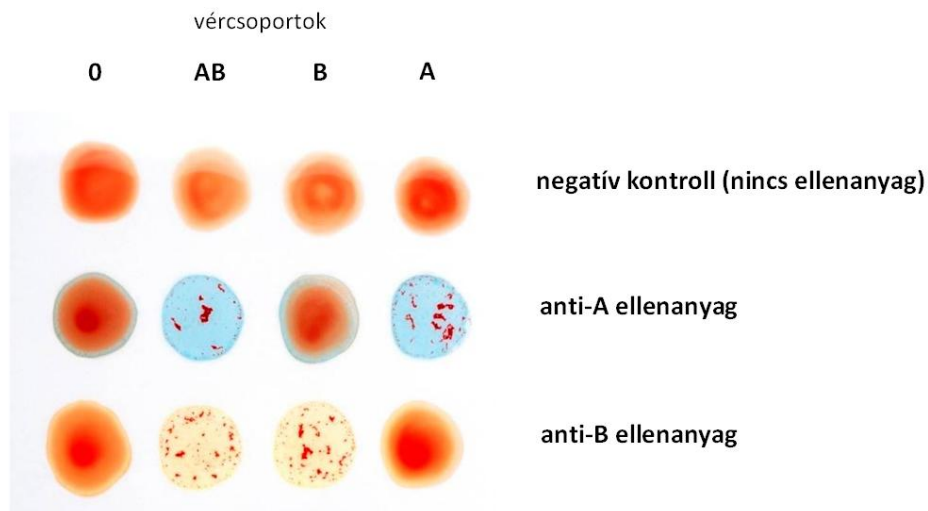
A képződött csapadék mennyisége akkor maximális, ha az antitest ekvivalens mennyiségben van jelen az antigénhez képest (3.2.1.2. ábra). A csapadék oldhatósága megnő bármelyik reagens feleslege esetén (eltérően a szokványos csapadékképződéstől).

⁸ A gélek részben szilárd, részben folyadék viselkedést mutató kocsonyaszerű anyagok, melyek gyengén keresztkött polimerláncok hálózatából épülnek fel és nagy mennyiségű folyadékot képesek magukba zárni.



3.2.1.2. ábra. Az antigén-antitest csapadék mennyisége az antigén/antitest arány függvényében

Hasonlóan reagálnak bizonyos antitestek a nagyméretű, vízben oldhatatlan antigénnel, mint pl. a sejtek, baktériumok. Ezek kicsapódását agglutinációnak nevezik és a vércsoport-meghatározás is ezen alapul. Az ábrán specifikus antitestek hatására agglutinálódott vörösvértestek láthatóak.



3.2.1.3. ábra. Vörösvértestek agglutinációja specifikus antitestekkel a vércsoport-meghatározás során

A legegyszerűbb technikáknál az antigén-antitest reakció gélben játszódik le és a precipitátumot vizuálisan értékelik. Ennek egy példája a radiális immundiffúzió.

Radiális immundiffúzió

Agar gélbe⁹ keverik az antitestet, kiöntik pl. egy Petri csészébe majd lyukat vágva a gélbe, az antigént felcseppentik. Ahogy az antigén sugárirányban diffundál, a gélben levő antitesttel immunkomplexet képez, melyből eleinte az antigén felesleg miatt csak kevés csapódik ki. Az antigén-antitest komplex kicsapódása szemmel látható, időben egyre növekvő gyűrűt látunk a lyuk körül. Ahogy az antigén egyre távolabbra diffundálva hígul, a csapadék mennyisége nő, majd amikor az antigén ekvivalens mennyiségbe kerül az antitesttel, a teljes mennyiség kicsapódik és a precipitációs gyűrű növekedése megáll. A végpontban a gyűrű átmérője az antigén koncentrációjával arányos (3.2.1.4. ábra).



<http://www.edvotek.com/273.html>

3.2.1.4. ábra. Különböző antigén tartalmú minták felcseppentése után kialakult precipitációs gyűrűk radiális immundiffúzióval

Nefelometria

Az oldatban lejátszódó immunreakciónál a csapadékképződés az oldat zavarosságának (turbiditásának) mérésével is nyomon követhető. Ezek a technikák azon alapulnak, hogy híg oldatokban szuszpendált kicsiny részecskék szórják a fényt. Ha tehát fénnel megvilágítjuk a mintát, egyrészt mérhetjük a csökkent intenzitású áteresztett fényt (turbidimetria), vagy egy rendszerint a megvilágításra merőleges szögben elhelyezett detektorral a szórt fény intenzitását (nefelometria). A mai modern készülékek kivétel nélkül a nefelometriás mérési elven alapulnak. A szórt fény intenzitása a részecskék koncentrációjával arányos. A nefelometria alkalmas mind az antigén, mind az antitest koncentrációjának mérésére. Az antigént és az antitestet összekeverik, mégpedig olyan koncentrációban, hogy csak kisméretű aggregátumok képződjenek, amelyek nem ülepednek ki gyorsan az oldatból. Az antigén-antitest reakció lezajlása után mérik a mintából kijövő szórt fény intenzitását és ismert összetételű standard mintákkal hasonlítják össze. Az ismeretlen minta koncentrációja kalibrációs görbe alapján határozható meg. Ezt a technikát végpont nefelometriának hívják. Ennél az eljárásnál mindig fennáll a veszélye, hogy túl nagy aggregátumok jönnek létre, amelyek már a mérés ideje alatt kiülepednek. Ezért gyakran használnak egy másik módszert is, ahol a csapadékképződés sebességét mérik (kinetikus nefelometria). A minta és a reagens összekeverése után rögtön mérik a fényszórást, illetve annak változását, ami a csapadék kiválásból adódik. A csapadékképződés sebessége adott ellenanyag-mennyiség esetén az antigén koncentrációjával nő.

⁹ Algából nyert zselés anyag, ami poliszacharidokból áll.

3.2.2. Jelölésmentes immunoszenzorok

Olcóságuk és egyszerűségük miatt egyre több műszeres analitikai mérést váltanak ki a bioszenzorok. Ezek egy biológiai eredetű érzékelő részhez (pl. sejt, szövet, enzim, antitest, nukleinsav) kapcsolódó fiziko-kémiai detektorból és az ahhoz tartozó jelfeldolgozó részből állnak. Az immunoszenzorok a bioszenzorok speciális típusa, ahol a minta szelektív megkötésére antitesteket alkalmaznak. A mintában levő meghatározandó anyag szelektíven kapcsolódik az érzékelő antitesthez, miáltal ennek környezetében valamilyen fizikai-kémiai változás történik, például változik a közeg törésmutatója, dielektromos állandója, az érzékelő tömege, elektromos vezetőképessége, stb. A detektor ezt a változást valamiképpen érzékeli, és elektromos jellé alakítja. A jel nagysága függ a minta koncentrációjától.

3.3. JELÖLT IMMUNREAGENST HASZNÁLÓ MÉRÉSEK – IMMUNOASSAY-EK

A legtöbb analitikai alkalmazásnál nem az eddig említett változásokat mérik, hanem az antigén és az ellenanyag mellett még egy harmadik anyagot is használnak, amelynek kvantitatív mérése viszonylag könnyen megoldható. Ez lehet akár az antigén, akár az ellenanyag jelölt változata. A jelölés annyit jelent, hogy a molekulába beépítünk, vagy kovalensen hozzákötünk egy analitikailag jól mérhető részt. Ilyen lehet pl. egy radioaktív izotóp, egy fluoreszcens molekula, vagy egy enzim.

3.3.1. Jelölő rendszerek

A jelölő anyag kiválasztásánál fontos szempont, hogy lehetőleg minél kevésbé változtassa meg az immunreagens kötődési tulajdonságait. A jelölő anyag lehet:

- radioaktív izotóp,
- enzim,
- fluoreszcens molekula,
- kemilumineszcens molekula,
- elektrokémiaailag aktív molekula,
- liposzóma¹⁰,
- mágneses nanorészecske.

Az alábbiakban a felsorolt jelölési módszerek közül a leggyakrabban használtakat ismertetjük, bemutatva ezek előnyeit és hátrányait is.

Radioaktív izotópos jelölés

A radioaktív izotópos¹¹ jelölés volt az első jelölési technika, amit immunoassay-eknél használtak. Az 1960-as évektől terjedt el. A módszer egyik kidolgozója Rosalyn Yalow 1977-ben Nobel-díjat kapott az inzulin radioimmunoassay-el (RIA) történő meghatározásáért. A radioaktív nyomjelzés kidolgozásáért korábban a magyar Hevesy György kapott Nobel-díjat 1943-ban. A radioaktív izotóp

¹⁰ Lipid kettősrétegből álló gömb alakú, mesterségesen előállított képződmények, melyekbe belülről különböző vízoldható molekulákat zárhatunk, amik onnan kiszabadítva könnyen mérhetőek.

¹¹ A radioaktív izotópok instabil atomok, melyek atommagjai radioaktív sugárzás kibocsátásával stabilizálódnak. Az α -sugárzást hélium atommagok alkotják, a β -sugárzás elektronsugárzás, a γ -sugárzás az atommagból származó, nagy energiájú elektromágneses sugárzás.

beépítése gyakorlatilag nem változtatja meg az antigén, vagy ellenanyag kötődési tulajdonságait ☺. Míg ez az egyik legérzékenyebb eljárás, nagyon kis koncentrációk is mérhetőek vele, ami abból adódik, hogy a radioaktivitás-mérés nagyon érzékeny, és hogy a sugárzás intenzitása nem függ a minta közegétől ☺. Hátránya, hogy csak speciális laboratóriumokban alkalmazható, mivel a radioaktív izotópokkal való munkát szigorú munkavédelmi előírások szabályozzák, és ezért a labor felszerelése és üzemeltetése költséges ☹. Egyes radioaktív jelző anyagok csak rövid ideig tárolhatók (rövid a felezési idejük), továbbá a hulladékok elhelyezése is problémás ☹. A radioaktivitást mérő berendezés is meglehetősen bonyolult és igen drága ☹. Emiatt a radioaktív izotópos nyomjelzés mára már visszaszorult. A kereskedelmi forgalomban kapható, klinikai mérésekhez szánt radioimmunoassay reagens készletek mind β -sugárzó izotópokat használnak. Ilyen izotópok a ^{131}I és legfőképpen a ^{125}I . Ezek az izotópok viszonylag rövid felezési idővel rendelkeznek (^{125}I : 60 nap, ^{131}I : 8 nap), miáltal a hulladékok hosszú távú tárolása nem jelent problémát ☺. Ez a jelölés jól kidolgozott, gyors és olcsó, az alsó kimutatási határ 10^{-8} – 10^{-12} M ☺. Hátránya viszont a β -sugárzó izotópos jelzéstechnikának, hogy a nagy energiájú radioaktív sugárzás a reagens molekulát lassan ronsolhatja, a kémiai kötések felszakíthatja ☹. Ezt a folyamatot „lebomlási katasztrófa”-nak nevezzük. Az izotóppal jelölt reagens csak korlátozott ideig tarthatók el az izotópok viszonylag rövid felezési ideje miatt ☹.

A γ -sugárzó ^{14}C - és ^3H -izotóp jelölést főleg kutatási célra használják. Az izotópok felezési ideje rendkívül hosszú (^3H : 12,3 év, ^{14}C : 5760 év), miáltal a hulladékok elhelyezése nagy problémát jelent ☹, viszont a reagens sokkal stabilabbak ☺. A módszer érzékenysége ugyanolyan jó, mint a β -izotópos jelölést alkalmazó módszeré (10^{-8} – 10^{-12} M) ☺.

Enzimjelölés

Gyakran alkalmaznak enzimjelölést, elsősorban makromolekulák pl. ellenanyagok jelzésére. Az enzimjelölést alkalmazó első immunoassay-eket az 1970-es években fejlesztették ki.

Ez esetben a jelzett anyag mennyiségének mérése enzimkoncentráció mérését jelenti. Az enzimek koncentrációját az általuk katalizált reakció sebességének mérésével határozzuk meg. Az enzim reakció kinetikájáról jó oktatási segédanyagot találunk a következő internetes oldalon http://www.wiley.com/college/pratt/0471393878/student/animations/enzyme_kinetics/index.html.

Célszerűen olyan reakciót katalizáltatunk az enzimmel, amelyben színtelen szubsztrátból színes termék keletkezik. Az ilyen szubsztrátot kromogénnek is nevezik. A szubsztrát hozzáadása után adott idővel (tipikusan 10–30 perc után) leállítjuk az enzimreakciót és mérjük az oldat fényelnyelését a színes termék elnyelési maximumánál. Fontos, hogy a szubsztrátot az enzimhez képest nagy feleslegben alkalmazzuk, hogy az adott idő alatt keletkezett termék mennyiségét ne a szubsztrát mennyisége határozza meg, hanem az enzimé. Ily módon a keletkezett termék mennyisége és ezáltal az abszorbancia is egyenesen arányos lesz az enzim koncentrációjával. A reakció időben történő leállítása is fontos, mivel ha nagyon sok ideig hagyjuk folyni, akkor az enzim akár milyen kis koncentrációban van is, az összes szubsztrátot átalakítja. Így az enzimkoncentrációtól függetlenül, minden mintában ugyanakkora jelet mérünk. Mivel egyetlen enzim a mérés ideje alatt sok szubsztrátmolekulát alakít át, a mérés nagyon érzékeny lehet ☺.

A leggyakrabban használt jelölő enzimek a torma-peroxidáz és az alkalikus foszfatáz.

A torma-peroxidáz szubsztrátjaként o-fenilén diamint (OPD, [o-Phenylenediamine – Wikipedia, the free encyclopedia](#)), 2,2'-azino-bisz(3-etilbenzotiazolin-6-szulfonsav) (ABTS, [ABTS – Wikipedia, the free encyclopedia](#)), vagy 3,3',5,5'-tetrametilbenzidint (TMB, [3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine – Wikipedia, the free encyclopedia](#)) használnak. Ezek közül az OPD rákkeltő, ezért már kevésbé használatos. Az alkalikus foszfatáz szubsztrátjaként p-nitrofenil foszfátot használnak.

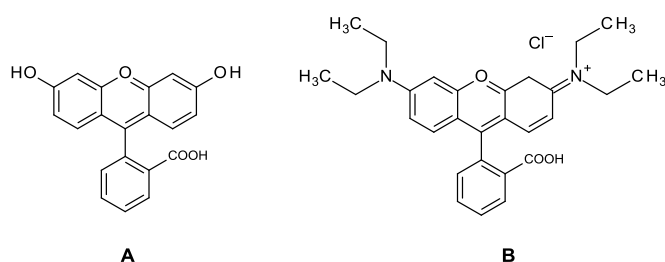
Manapság már nemcsak olyan szubsztrátokat használnak, melyeket a jelző enzim fotometriásan detektálható terméké konvertál, hanem olyanokat is, amelyek fluoreszcens, illetve kemilumineszcens végtermékké alakulnak. A fluoreszcens enzim immunoassay csak kissé érzékenyebb, mint a fotometriás, de sokkal tágabb a mérhető koncentrációtartomány ☺. A kemilumineszcencián alapuló assay-ek szintén tág koncentrációtartományban használhatóak és emellett rendkívül alacsony a kimutatási határuk ☺.

Fluoreszcens jelölés

Viszonylag kis koncentrációk mérésénél használják a fluoreszcens jelzést. A jelölendő molekulához kovalensen kapcsolják a fluoreszcenciára képes molekulát. A fluoreszcencia jelenségéről és méréséről a III-B 1.1.2., 1.1.3., 1.1.4. és a 1.2.6 fejezetekben olvashatunk részletesen. A fluoreszcens jelzés alkalmazásának legnagyobb problémája a biológiai mintákban eleve jelenlévő fluoreszcens anyagok (fehérjék, NADH, bilirubin) háttérzavarása, ami a jel/zaj viszonyt csökkenti.

A fluoreszcens jel mérésére jelenleg három módszert alkalmaznak:

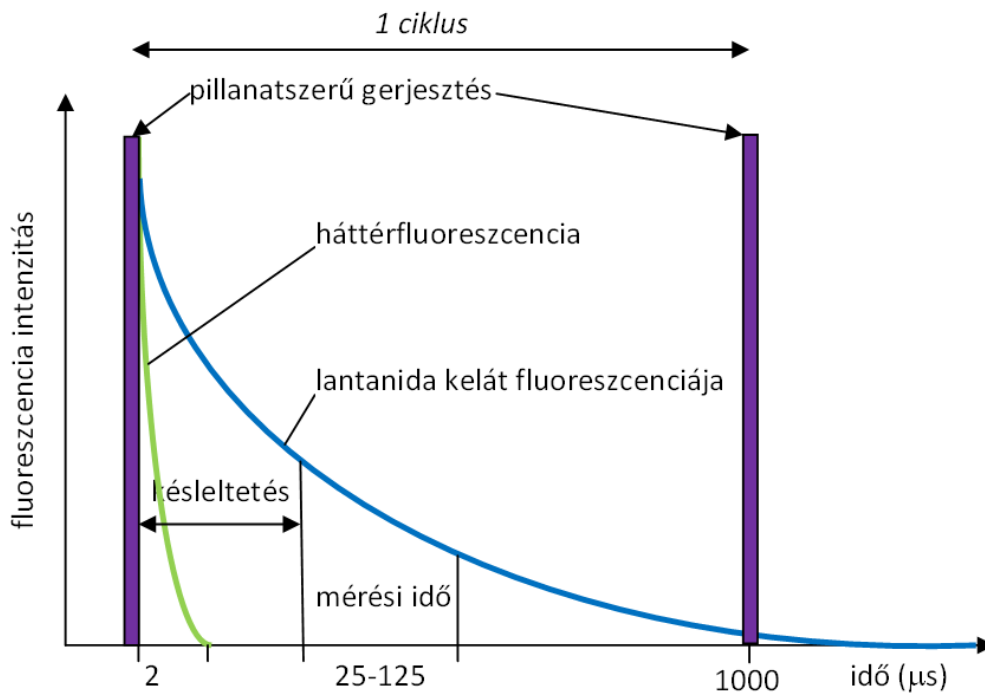
az egyik a hagyományos fluorimetria, amikor időben folyamatosan gerjesztik a fluoreszcens molekulákat és az emittált fényt folyamatosan mérik. A leggyakrabban használt jelölő anyagok a fluoreszcein és a rodamin származékok (3.3.1.1. ábra).



3.3.1.1. ábra. A fluoreszcein (A) és a Rhodamine B (B) molekula szerkezete

A zavaró háttérfluoreszcencia kiküszöbölhető az időfelbontásos fluorimetria alkalmazásával. Itt a gerjesztő fényrel rövid ideig besugárzott minta fény emisszióját rövid késleltetés után mérik. Ehhez olyan speciális fluoreszcens jelölőanyagok alkalmazása szükséges, mint a lantanida fémionok (pl. Eu³⁺, vagy Sm³⁺) kelátkomplexei. Ezek ugyanis a besugárzás után a többi fluoreszcens molekulához képest¹² nagyon hosszú ideig emittálnak (0,5–3 ms), tehát akkor mérhetjük a fluoreszcenciát, amikor a háttérfluoreszcencia már elenyésző. Így a jel/zaj viszony nagyon megnő és a mérés sokkal érzékenyebb (3.3.1.2. ábra).

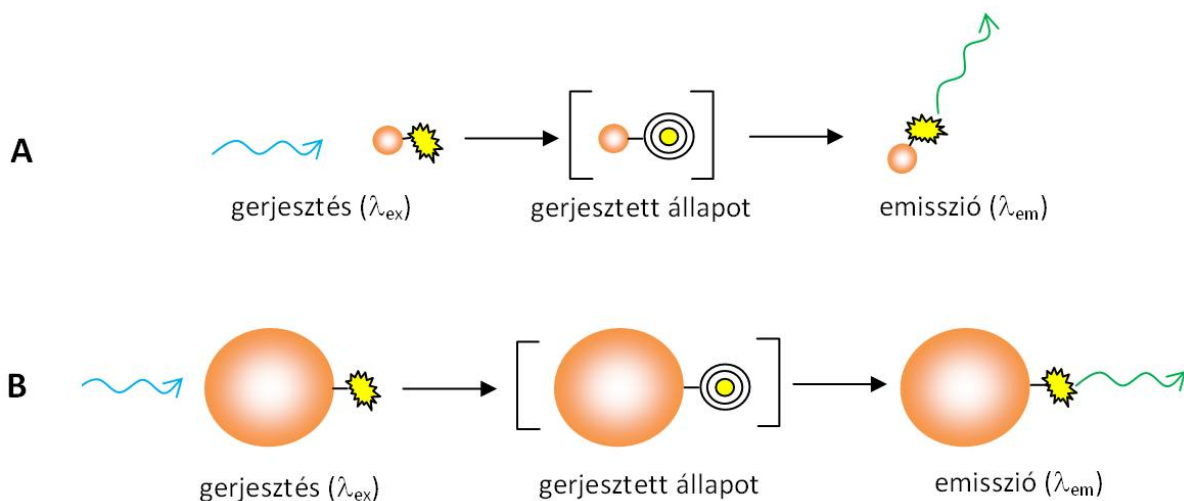
¹² Egy átlagos fluoreszcens molekulánál a fluoreszcencia lecsengési ideje kb. 0,5–20 ns.



3.3.1.2. ábra. Az időfelbontásos fluorimetria elve (a mérés során a ciklusok ismétlődnek egymás után)

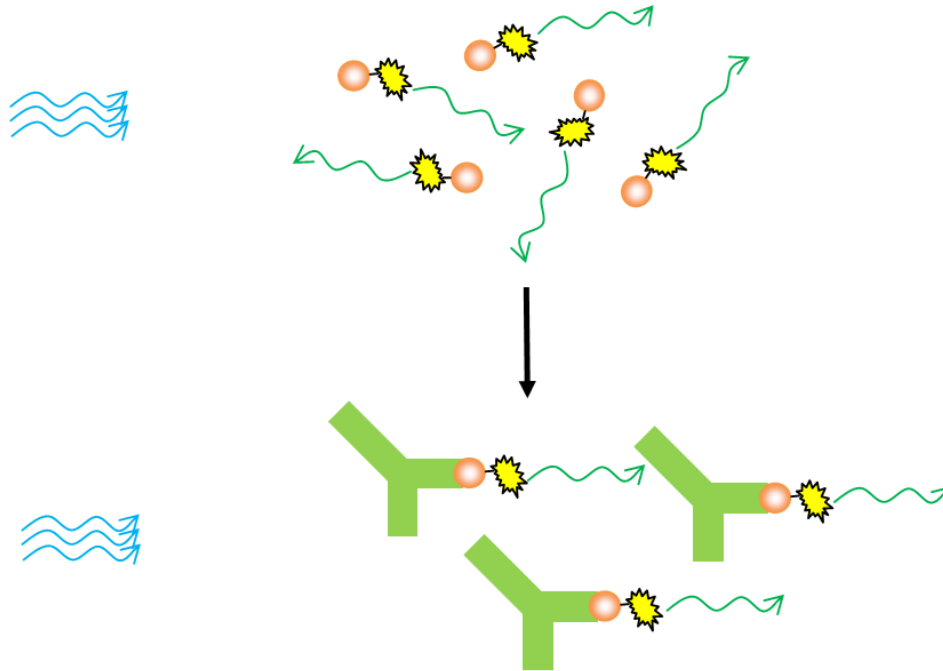
A fluoreszcens detektálást alkalmazó immunoassay-ek különleges változata a fluoreszcencia polarizációs immunoassay. Ez a mérési módszer a fluoreszcencia jelenség sajátos vonásán alapszik. Ha a fluoreszcenciát oldatban egy síkban polarizált fénynyalábbal idézzük elő, akkor a fluoreszcens fény lehet továbbra is síkban polarizált, de el is veszítheti a polarizált jellegét. Ez attól függ, hogy milyen gyorsan forognak a fluoreszcens fényt kibocsájtó molekulák. Ha ugyanis a gerjesztés és a fénykibocsátás között eltelt időben (ami általában a nanoszekundumok 10^{-9} s – dimenziójába esik) a molekulák térfelhelyzete változatlan, akkor a kibocsátott fény polarizációs síkja megegyezik az elnyelt fényével. Ellenkező esetben a molekula elfordulásának megfelelő, más irányban lesz polarizált a kibocsátott fény. Mivel az egyes molekulák egymástól függetlenül forognak, a kibocsátott fény összességében már nem polarizált.

A molekulák forgási sebessége nagyban függ a méretüktől. A néhány százas móltömegű fluoreszcensen jelzett mintamolekulák olyan gyorsan forognak, hogy a fluoreszcens fény polarizációja eltűnik, vagy nagyon lecsökken (3.3.1.3. ábra/A ábra). A nagyméretű molekulák forgási sebessége viszont olyan kicsi, hogy a fluoreszcens fény polarizált marad (3.3.1.3. ábra/B ábra).



3.3.1.3. ábra. A fluoreszcencia polarizációs mérés elve

Ha tehát egy kismolekulájú fluoreszcensen jelzett antigén és a nagy molekulájú ellenanyag oldatát elegyítjük, és ezután mérjük a poláros fény által kiváltott fluoreszcencia polarizációs fokát, akkor azt tapasztaljuk, hogy a reakció időbeni előrehaladásával a polarizációs fok egyre nő. Evvel a módszerrel tehát követhető a reakció kinetikája is, majd az egyensúly beállása után a keletkezett komplex mennyiségére is következtetni lehet (3.3.1.4. ábra).



3.3.1.4. ábra. A fluoreszcens fény polarizáltságának változása a kisméretű molekula antitesthez való kötődése után

Kemilumineszcens jelölés

Kemilumineszcenciáról akkor beszélünk, ha a molekula gerjesztése kémiai reakcióban történik (ld. a III-B 1.1.2., 1.1.3., 1.1.4. és a 1.2.6 fejezeteket). A gerjesztett állapotú termék molekula fénykibocsátással tér vissza alapállapotba. Általában oxidációs reakciókban fordul elő, amikor egy molekulát erős oxidálószerrel (pl. hidrogénperoxiddal) lúgos közegben oxidálunk. A biolumineszcencia a kemilumineszcencia sajátos esete, amikor is a kémiai reakciót enzim katalizálja. Ilyen a szentjánosbogárban lejátszódó reakció, melyet a luciferáz enzim katalizál:

Luciferin + oxigén = oxiluciferin + fény.

Kemilumineszcens jelölőanyagként legtöbbször luminolt ([Luminol – Wikipedia, the free encyclopedia](#), [Chemiluminescence – Wikipedia, the free encyclopedia](#)) használnak.

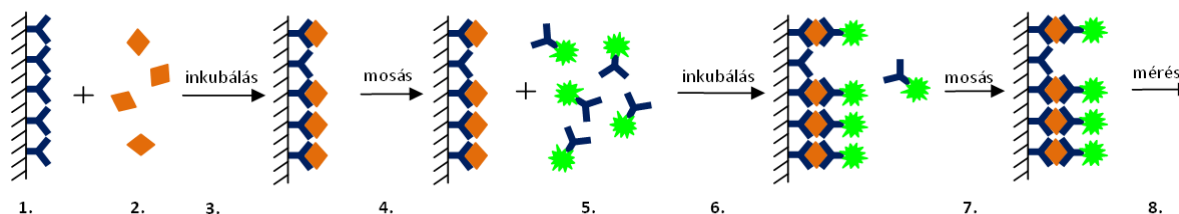
A módszer érzékenysége a radioaktív immunoassay-ével vetekszik, illetve felül is múlja. Hátránya, hogy szennyeződések, és a biológiai mátrix zavarhatják a mért jelet.

Az immunoassay-ekhez leggyakrabban kétféle reagens (jelöletlen és jelölt immunreagens) szükséges, most nézzük, hogyan lehet ezek segítségével analitikai méréseket végezni, vagyis hogyan lehet ezeket a mintával reagáltatni, hogy annak koncentrációját meghatározzuk.

A könnyebb megértés kedvéért először az immunoassay-ek két alapvetően eltérő típusát mutatjuk be. Az egyik esetben az antitest feleslegben van az antigénhez képest, ekkor immunometrikus, más néven szendvics, vagy nemkompetitív módszerről beszélünk. Kompetitív vagy versengő eljárásról beszélünk, ha a mérendő anyag jelzett és jelzetlen formája túlsúlyban van az antitesthez képest, és ennek kötőhelyeiért a jelzett és jelzetlen molekulák versenyeznek.

3.3.2. Az antitest feleslegén alapuló módszerek Immunometrikus assay

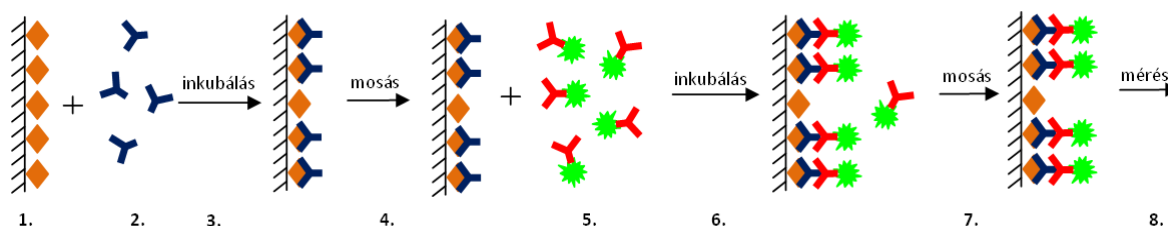
Ha az antigén makromolekula, akkor ennek felületén számos olyan részlet (epitóp) van, amelyre ellenanyag készíthető. Az első példánknál (3.3.2.1. ábra) az assayhez két olyan ellenanyagot kell előállítani, amely a mérendő makromolekula különböző, egymástól elég távoli részleteihez köt.



3.3.2.1. ábra. Az immunometrikus assay menete

Az első ellenanyagot pl. műanyag kémcső falához kötik kovalensen vagy fizikai adszorpcióval úgy, hogy az ellenanyag antigén kötőhelyei lehetőleg szabadon maradjanak. A másik ellenanyagot megjelölik. Ezután a mintát a kémcsőbe töltik. Fontos, hogy az edény falára olyan sok ellenanyag legyen kötve, hogy a hozzáadott mintában levő antigén ne tudja telíteni, mert ha telítődik, akkor a megkötött antigén mennyiség a minta koncentrációjától már független lesz. A kötési reakciót termosztátban, többnyire szobahőmérsékleten, vagy 37 °C körül hajtják végre. Viszonylag hosszú időre, akár órákra van szükség hozzá, hogy teljesen végbemenjen, mivel a mintamolekuláknak a felületre rögzített ellenanyagokhoz diffúzióval kell eljutni. Ezt a lépést hívják inkubálásnak. Ez után a mintát kiöntik és öblítés után a kémcsőbe töltik a második, jelzett ellenanyagot. Ebből is fölösleget kell alkalmazni, hogy minden megkötött antigén molekula megkössön egy jelzett ellenanyagot. Ekkor egy második inkubálási lépésre van szükség. Az egyensúly beálltával az eredeti minta megkötött antigén molekulái a kémcső falán két különböző ellenanyag-molekula közé kötve helyezkednek el („szendvics”). A fölösleges jelzett anyagot kiöntik, és öblítés után mérik a kémcsőben a jelölőanyag koncentrációját. Ez értelem szerűen egyenesen arányos a jelzett ellenanyag mennyiségével, ami pedig az elmondottak szerint egyenértékű a vizsgált minta teljes antigén tartalmával.

Vannak olyan esetek, amikor nem a vérben jelenlévő antigénből következtetnek a betegségre (mert pl. ennek mérése nagyon nehéz volna), hanem a szervezetben az antigén ellen termelődött ellenanyag méréseivel. Ilyen pl. a HIV-teszt is (AIDS-teszt), amikor nem a HIV-vírus közvetlen mérése a feladat, hanem a megtámadott szervezet immunreakciója során termelődött HIV-ellenanyagot mérik. Ezekben az esetekben is alkalmazható az immunometrikus mérés kis módosítással (3.3.2.2. ábra).



3.3.2.2. ábra. Az immunometrikus assay menete, ha a mérendő anyag antitest

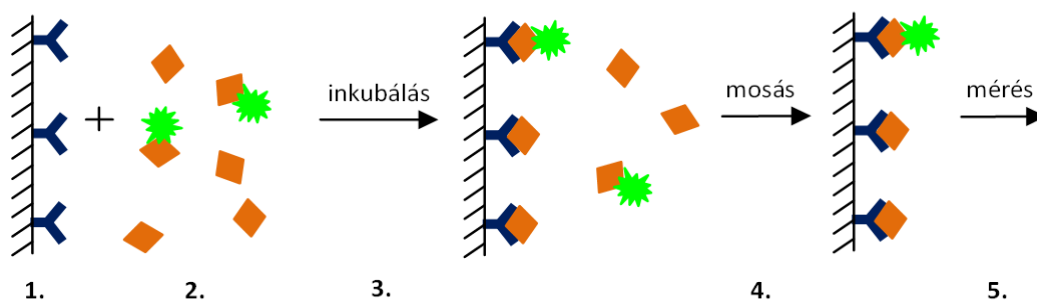
A kémcső falára ilyenkor a HIV-antigént rögzítik feleslegben, majd hozzáadják az ellenanyagot tartalmazó szérumból mintát. (Itt az ellenanyag a meghatározandó anyag.) A kémcső falán levő antigénre specifikus ellenanyag megkötődik, a nem kötődött anyagokat kimossák. A következő lépésben feleslegben jelzett ellenanyagot tesznek a csőbe, melyet a humán ellenanyag konstans része ellen termeltek állatban¹³. Ez a kémcső falához kötődött ellenanyagokhoz kötődik az inkubálás során. A bekötődött jelzőanyagot a felesleg eltávolítása után mérik. Ennek mennyisége a mintában található ellenanyag mennyiségével lesz egyenesen arányos.

A bemutatott mérési módszer egyik fontos eleme, hogy mindkét immunreagens főlegben volt a mérendő anyaghoz képest. (Az első példában a jelzetlen és jelzett antitest volt feleslegben az meghatározandó antigénhez képest, a második példában a falhoz kötött antigén és a jelzett ellenanyag volt feleslegben a meghatározandó ellenanyaghoz képest.) Ez azt vonja maga után, hogy az antigén-antitest reakció egyensúlya nagymértékben eltolódik a komplex képződése felé, a mintában nagyon kevés mérendő anyag marad szabadon, még akkor is, ha alacsony a koncentrációja. Így az immunometrikus módszer kimutatási határa nagyon alacsony.

3.3.3. Az antitest limitált mennyiségén alapuló módszerek. Kompetitív vagy versengő immunoassay

Az immunometrikus módszert akkor használjuk, amikor a meghatározandó molekula nagyméretű, a felszínén legalább két ellenanyagot meg tud kötni. Kis molekulák mérésére azonban ez nem működik, másik módszerre van szükség.

Ennél az eljárásnál a jelzett anyag a mérendő antigénnel kémiai majdnem azonos, a különbség csak a jelzettségében van (3.3.3.1. ábra).



3.3.3.1. ábra. A kompetitív immunoassay menete

A mérés során egy ellenanyagot használnak, ami itt is lehet egy kémcső falán rögzítve. Ezt inkubálják a mérendő mintával és a jelzett antigénnel együtt. Lényeges különbség azonban a szendvics módszerhez képest, hogy itt a teljes (jelzett és jelzetlen) antigén mennyiség kis feleslegben van az ellenanyaghoz képest. Emiatt a jelzett és a jelzetlen antigén molekuláknak versenyezni kell az ellenanyag kötőhelyekért. Ha a jelzett és jelzetlen antigén a reakció szempontjából elég egyforma, akkor ugyanolyan arányban kötődnek meg, mint amilyen arányban az oldatban jelen voltak. Az

¹³ A humán ellenanyagot az állat szervezete idegen anyagként, antigénként ismeri fel, ezért ellenanyagot termel ellene.

inkubálás után a nem reagált anyagokat kimossuk, így a nem reagált jelzett anyagot elválasztjuk a reagálttól. A kémcsőben maradt, immunkomplexben megkötött jelölőanyag mennyiségét mérjük. Minél kisebb az ismeretlen minta antigén koncentrációja, annál több jelzett antigén tud a rögzített ellenanyaghoz kötődni, a mért jel annál nagyobb lesz. Fordítva, minél nagyobb a minta antigén koncentrációja, annál kevesebb jelzett antigén kötődik, tehát a mérés végén annál kisebb lesz a mért jel. Ebben az esetben fordított arányosság áll fenn tehát a minta antigén koncentrációja és a mért jel között. Mivel ennél a módszernél az antigének vannak feleslegben az ellenanyaghoz képest, az egyensúly beállta után szabadon marad viszonylag sok antigén, ezért a kimutatási határa nem annyira alacsony, mint a szendvics módszerek.

3.3.4. Homogén immunoassay

Az előző fejezetek példáiban a jelöletlen antitestet, vagy antigént első lépésben kémcső falához kötöttük és az antigén-antitest reakció lezajlása után eltávolítottuk a falon nem kötődött komponenseket. Ilyenkor heterogén immunoassay módszerről beszélünk, ami azt jelenti, hogy az immunkomplexet elválasztjuk a nem kötődött antigéntől/antitesttől. Ha az immunoassay elválasztás nélkül megy végbe, a módszert homogénnek nevezzük. Az immunoassay módszereket ez alapján is szokták csoportosítani.

A homogén immunoassay kialakításának az a feltétele, hogy a jelölt immunreagens jele megváltozzon az immunkomplex kialakulása következtében. A homogén immunoassay-ek sokkal gyorsabbak, és egyszerűbben kivitelezhetők, mint a heterogén immunoassay-ek, ezáltal könnyebben automatizálhatók, de a minta közegéből származó zavarás sokkal nagyobb, mivel azt nem távolítjuk el a mérés során. A legtöbbjük kis molekulájú antigének meghatározására alkalmas és kompetíció alapul. A következőkben a két leggyakrabban használt technikát mutatjuk be.

EMIT (enzyme multiplied immunoassay technique)

Az EMIT kis molekulák (gyógyszerek, kábítószer) meghatározására szolgál, enzimjelölést alkalmazó, kompetitív immunoassay. Ez volt az első széles körben alkalmazott homogén immunoassay. A következő lépésekből áll:

1. Az ismeretlen antigén mintához adott mennyiségű ellenanyagot adunk.
2. A mintát inkubáljuk, mialatt az antigén az ellenanyaghoz köt.
3. A mintához hozzáadunk adott mennyiségű enzimmel jelzett antigént.
4. Ismét inkubáljuk a mintát.

Az antigén-enzim konjugátumban az enzim alapvetően aktív, de az ellenanyaghoz kötődve inaktívvá válik.

5. Hozzáadjuk az enzim szubsztrátját nagy feleslegben.
6. Megfelelő ideig inkubáljuk, mialatt a szubsztrát átalakul színes terméké.
7. Mérjük az enzim aktivitást, vagyis adott idejű enzimreakció után a képződött színes termék mennyiségét.

A kapott jel az antigén koncentrációjával egyenesen arányos. Ha kevés antigén van a mintánkban, a kompetíció miatt sok enzimmel jelzett antigén fog ellenanyaghoz kötődni, és emiatt nagymértékben csökken az enzimaktivitás, vagyis kicsi lesz a mért jel. Ha viszont sok antigén van a mintánkban, csak kevés enzimmel jelzett antigén tud immunkomplexet képezni és kevéssé csökken az enzimaktivitás, nagy lesz a kapott jel.

FPIA (Fluoreszcencia polarizációs immunoassay)

Az első fluoreszcencia polarizációs immunoassay-t 1961-ben fejlesztették ki, és ezen az elven alapult az első automatizált immunoassay készülék, amelyet 1981-ben dobott piacra az Abbott cég. A fluoreszcencia polarizációs immunoassay detektálási elvét korábban a 3.3.1 fejezetben már bemutattuk. Maga a mérés úgy történik, hogy

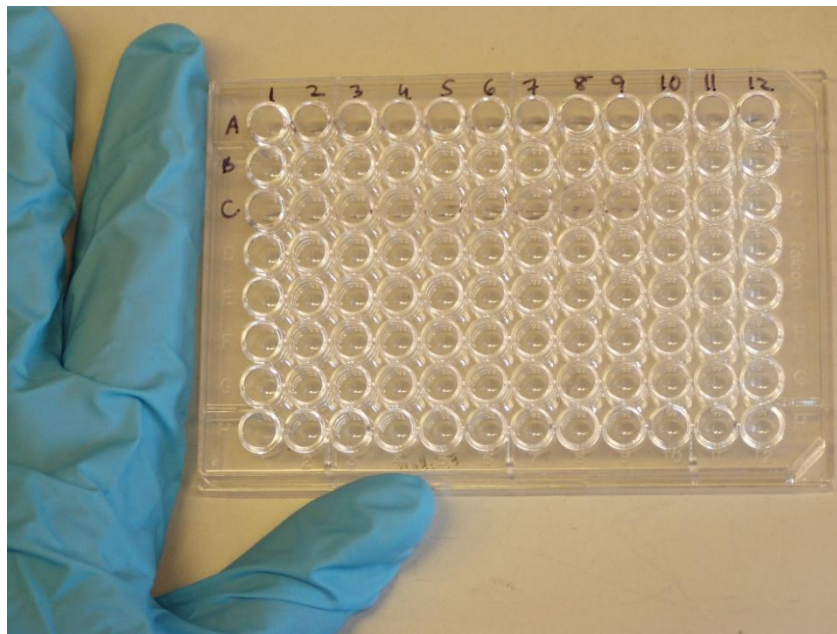
1. a kisméretű antigént tartalmazó mérendő mintát és az antigén fluoreszcens molekulával (pl. fluoreszcein) jelölt formáját reagáltatjuk az antitesttel.
2. Az inkubáció ideje alatt az antigén és a fluoreszcens jelzett antigén versenyezve bekötődnek a limitált számban jelenlevő antitest kötőhelyekre.
3. A mintát síkban polarizált fényel gerjesztjük és mérjük a polarizációfokot (a fény polarizáltságának mértékét).

Ha a minta kevés antigént tartalmaz, a fluoreszcens jelzett antigén nagy része az antitesthez kötődve immunkomplexet alkot. Ez nagy méretének köszönhetően nem csökkenti az emittált fluoreszcens fény polarizáltságát, vagyis magas polarizációfokot mérünk. Ezzel szemben, ha a mintánkban nagy koncentrációban van jelen az antigén, akkor az antitesthez csak kevés jelzett antigén tud bekötődni, a többi szabadon, gyorsan forog, így a fény polarizációfoka lecsökken. Ily módon a mért polarizációfok a minta antigén koncentrációjával fordítottan arányos.

3.3.5. Heterogén immunoassay

Heterogén immunoassay-ekben ahhoz, hogy az immunreakció után az antigén-antitest komplexet el tudjuk választani a kötetlen antigéntől, vagy antitesttől, a jelöletlen immunreagenst szilárd hordozóhoz kötik. A minta antigén és a jelölt reagens hozzáadása után az immunreakció egyensúlyának beálltával mosással eltávolítják a szilárd hordozóhoz nem kötődött molekulákat, majd a szilárd hordozón lévő jelölő anyag koncentrációját mérik. Ez a szilárd hordozó lehet:

- műanyag kémcső,
- mikrotiter tálca (3.3.5.1. ábra),
- polimer szemcse,
- mágneses részecske.



http://en.wikipedia.org/wiki/File:Microtiter_plate.JPG

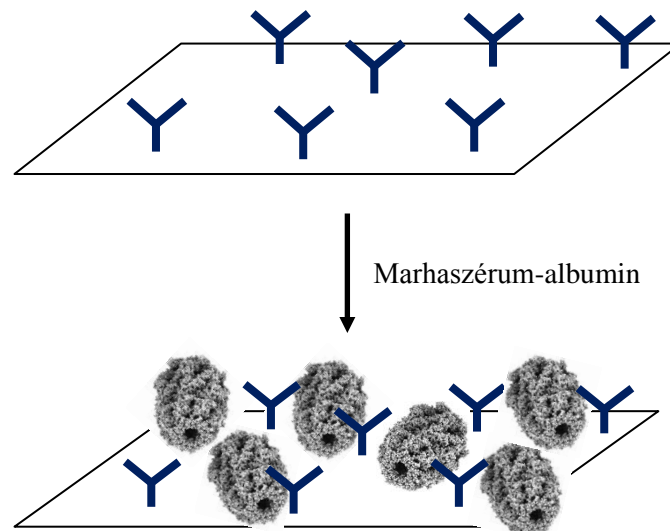
3.3.5.1. ábra. 96 lyukú mikrotiter tálca

A műanyag csövek és a mikrotiter tálcák nagyon elterjedtek, általában polisztirolból készülnek. A mikrotiter tálcák 96 mélyedést (angolul: well) tartalmaznak 8×12 kiosztásban, az immunreakció a kb. 300 μl térfogatú mélyedésekben megy vége. A mikrotiter tálcák előnye, hogy 8 csatornás automata pipettával egyszerre 8 minta kezelhető, és a mosási lépés is nagyon egyszerű, mind a 96 mélyedést egyszerre lehet kiüríteni, erőteljes mozdulattal „kicsapva” belőlük a folyadékot.

Szilárd hordozóként gyakran használnak homodiszperz méreteloszlású¹⁴ polisztirol mikroszemcséket, melyek átmérője 50 nm-től 0,5 µm-ig terjedhet. Ezek az ún. latex részecskék vizes közegben stabil szuszpenziót képeznek és sokkal nagyobb felületet biztosítanak, az immunreagens megkötésére, mint a műanyag csövek vagy mikrotiter tálcák. Mivel az oldatban nagyon sűrűn vannak, ezért a diffúziós úthossz is nagyon lerövidül az előbbiekhöz képest, ezáltal rövidebb inkubáció elegendő. Az immunreakció lezajlása után a latex részecskékhez kötött immunkomplexeket centrifugálással választják el a nem kötődött antitesttől vagy antigéntől. Ez a lépés viszont időigényesebb, mint a műanyag csövek, vagy mikrotiter tálcák esetén, ahol az elválasztás egyszerűen az oldat kiöntésével történik. A latex részecskéknek mágneses változatuk is van, ezeknek a szeparálása egyszerűbb, egy erős mágnes segítségével történik, amely az edény falához vonzza a mágneses részecskéket és az oldatot pipettával le lehet szívni.

Az antitesteket leggyakrabban vizes oldatból fizikai adszorpcióval kötik rá a szilárd hordozóra. A fehérje hidrofób csoportjai nagyon erősen adszorbeálódnak a szintén hidrofób polimer felületre. Ha a fizikai adszorpció valami miatt nem megfelelő, kovalensen is hozzákötethetik a szilárd hordozóhoz az immunreagenst, vagy egy másik speciális fehérjén keresztül, amely az antitesteket a konstans régióknál fogva szelektíven megköti. Utóbbi esetekben sokkal nagyobb az esély arra, hogy az antitestek antigénköthelye szabadon maradjon.

Annak kiküszöbölésére, hogy az immunoassay további lépései során az antigén, vagy a második antitest fizikai adszorpcióval, nem specifikusan, vagyis nem az immunreakció által a felületre kötődjön, egy blokkolási lépést is be szoktak iktatni. A blokkolás abból áll, hogy az antitest adszorpciója után egy semleges fehérjét, pl. marhaszérum-albumint (BSA, bovine serum albumin) adnak a hordozóhoz, és ez a fehérje az antitestek által szabadon hagyott felületekre adszorbeál, azokat befedi. Így a további fehérje adszorpciót megakadályozza (3.3.5.2. ábra).



3.3.5.2. ábra. A szabadon maradt, nem specifikus kötőhelyek blokkolása az antisszel módosított felületen

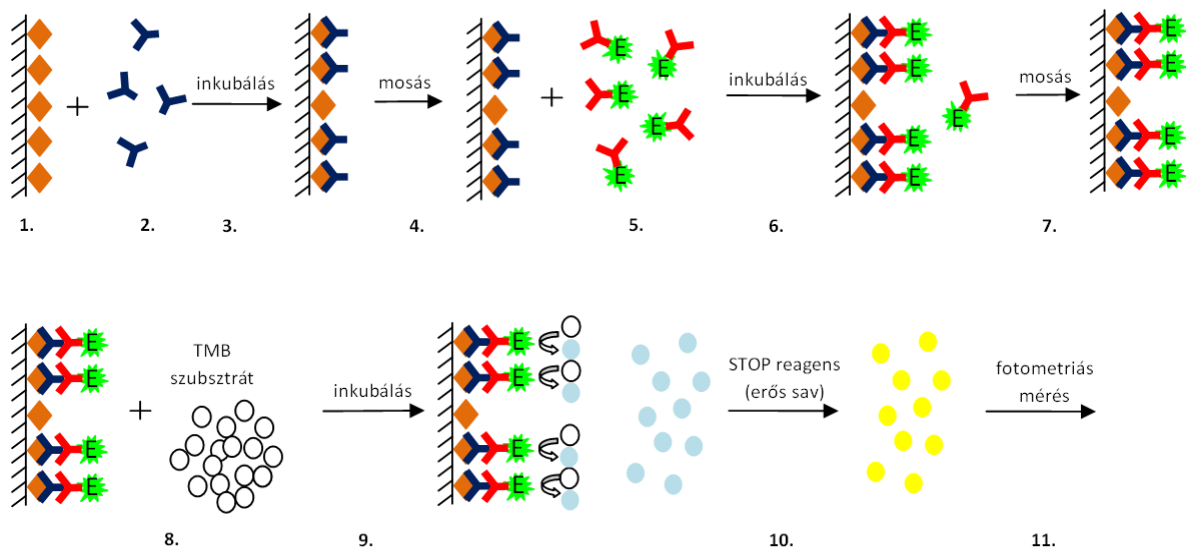
¹⁴ Gyakorlatilag minden szemcse azonos átmérőjű.

A heterogén immunoassay-ek hátránya, hogy az elválasztás munka- és időigényes, viszont eltávolítják a mérés előtt a zavaró mátrixkomponenseket, így alacsonyabb koncentrációk mérése válik lehetővé. Nehezebben automatizálható, mint a homogén módszerek, de ma már számos heterogén immunoassay-en alapuló, nagy mintaszám mérésére alkalmas automata rendszer van a piacon. Az alábbiakban egy heterogén immunoassay technikát mutatjuk be.

ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

A heterogén immunoassay-ek legelterjedtebb formája az enzimjelölést alkalmazó ELISA-technika, ahol legtöbbször 96 lyukú műanyag tálcában (mikrotiter tálca) végzik az immunreakciót, majd az enzimreakciót, és a tálca mélyedései szolgálnak küvetkaként is a fotometriás mérésnél. Léteznek kompetitív és immunometrikus ELISA-k és ezeknek is többféle variációja lehetséges, aszerint, hogy az antigént, vagy az antitestet kötjük a mikrotiter tálcára.

A következő internetes virtuális laborgyakorlat egy immunometrikus ELISA-t mutat be, ahol a vérszérumból antitesteket határoznak meg autoimmun betegség diagnosztizálása céljából. A mikrotiter tálca falára az antigént kötik fel, ehhez köt hozzá a mintából a meghatározandó autoantitest, majd a következő lépésben egy tormaperoxidázal jelzett antitest, amely az autoantitestre szelektív. A 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin szubsztrát hozzáadása után az enzimreakciót tömény savval állítják le, és a kialakult sárga színt fotometriásan mérik (3.3.5.3. ábra).



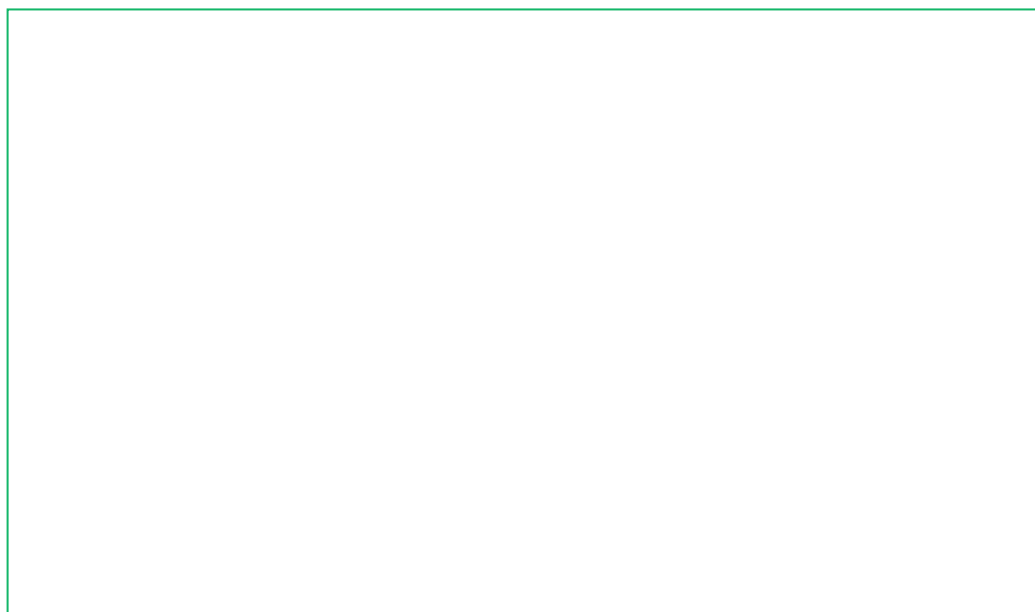
3.3.5.3. ábra. Immunometrikus ELISA elve antitestek mérésénél

Kattintson a következő linkre és végezze el a virtuális immunanalitikai mérést.

<http://www.hhmi.org/biointeractive/vlabs/immunology/index.html>

Az alábbi videó szintén egy ELISA mérést mutat be α -fetoprotein fehérje vérszérumból történő meghatározására.

VIDEÓ



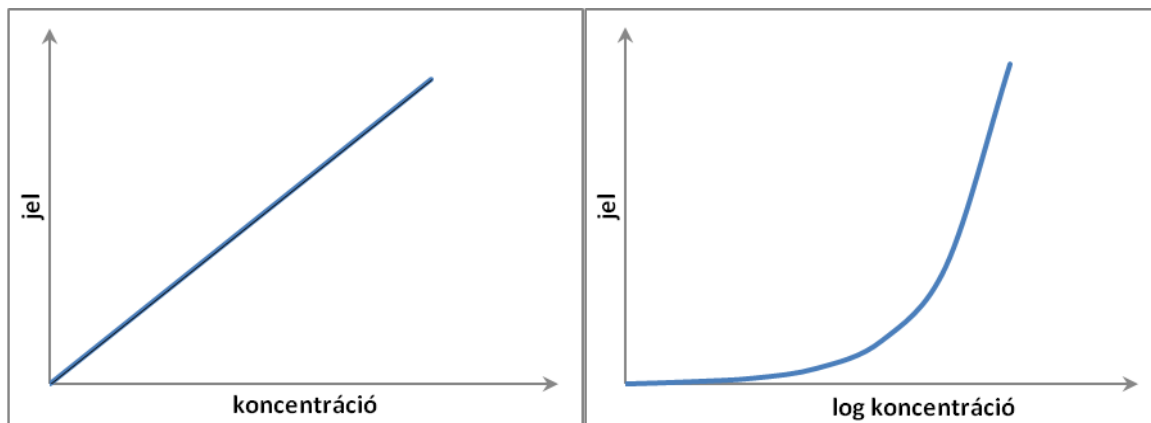
3.3.5.1. videó. α -fetoprotein fehérje meghatározása vérszérumból ELISA módszerrel

4. MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁS IMMUNOASSAY-EKKEL

4.1. KALIBRÁCIÓ

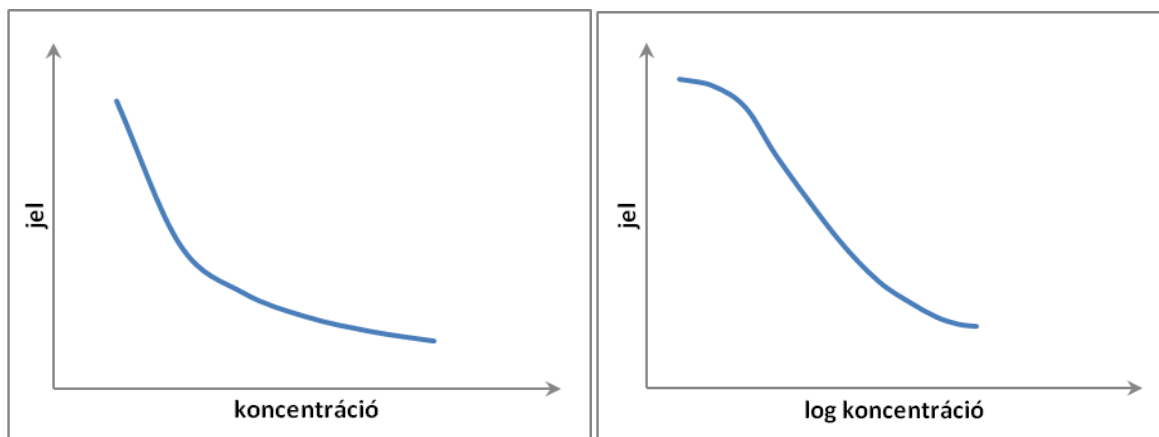
Az immunoassay-eknél a kvantitatív meghatározás kalibráció segítségével történik.

Immunometrikus mérésnél az antigénből kalibráló standard sorozatot készítenek és ezeket inkubálják minden esetben azonos mennyiségű ellenanyaggal és jelzett ellenanyaggal. A mért jelet az antigén koncentrációjának függvényében ábrázolják, és az ismeretlen mintát a standardokkal azonos módon lemérve a kalibrációs függvény segítségével mérik. A kalibrációs összefüggés egyenes arányosság: minél több antigén van a mintában, annál több jelzett ellenanyag tud bekötődni az ellenanyag-antigén komplexhez és annál nagyobb jelet kapunk. Ha több nagyságrendet kell átfogni a kalibrációval, a kalibrációs görbe koncentrációtengelyét általában logaritmikus léptékben ábrázolják (4.1.1. ábra).



4.1.1. ábra. Az immunometrikus assay kalibrációs függvénye

Kompetitív mérésnél az antigénből szintén kalibráló standard sorozatot készítenek, mindegyik oldathoz ugyanannyi jelzett antigént adva. Ezeket a mintákat inkubálják minden esetben azonos mennyiségű ellenanyaggal. Az antigén-antitest komplexre mért jelintenzitást ábrázolják a jelzetlen antigén koncentrációja (pontosabban utóbbi logaritmusának) függvényében. A kapott kalibrációs görbét használják az ismeretlen mintákhoz, természetesen ezeket is a standardokkal azonos módon mérve. A kalibrációs összefüggés a kompetitív módszernél fordított arányosság (matematikai függvénye a hiperbola), mivel minél nagyobb a minta antigén koncentrációja, annál kevesebb jelzett antigén tud az antitesthez kötődni, és fordítva. A kalibrációs görbén a koncentráció tengelyt logaritmizálva jellegzetes fordított S alakú görbét kapunk, melynek a középső, meredek szakasza használható koncentrációmérésre (4.1.2.).



4.1.2. ábra. Kompetitív immunoassay kalibrációs függvénye

Fontos megjegyezni, hogy a biológiai eredetű reagensek alkalmazása miatt az immunoassay módszerek szórása jóval nagyobb lehet, mint a jegyzetben bemutatott műszeres analitikai módszereké. Egyes esetekben 10–15, akár 20% szórás is elfogadható lehet.

4.2. IMMUNOASSAY-EK A GYAKORLATBAN

4.2.1. Immunoassay reagens készletek

Az analitikai gyakorlatban a minta koncentrációjának meghatározását kereskedelemben kapható ún. immunoassay reagens készletekkel végzik, amelyek mindegyike egy-egy meghatározott anyagot képes mérni (4.2.1.1. ábra).



4.2.1.1. ábra. Az ELISA Technologies Inc. (Gainesville, FL, USA) ELISA-reagens készlete

Ezekben készen megtalálható a

- jelöletlen antitest, vagy ha ellenanyagot akarunk mérni antigén (heterogén immunoassay-eknél már a szilárd hordozóhoz kötve és a hordozón a nem specifikus kötőhelyek leblokkolva),
- a meghatározandó anyagot tartalmazó kalibrációs standard minták (a minta típusának megfelelő mátrixban, pl. szérumban),
- és a jelzett immunreagens (jelzett antigén, vagy antitest).

A készletek tartalmaznak továbbá leírást a mérés pontos kivitelezéséről. A módszer optimalizálva van az adott minta analitikai szempontból fontos koncentrációtartományban történő mérésére.

4.2.2. Automatizált mintaelemzők

Az immunoassay reagenskészletekkel végzett mérések történhetnek manuálisan, de ott, ahol naponta akár több száz, ezer mintát kell lemérni, pl. kórházi laboratóriumban, gyakran alkalmaznak automatizált mintaelemzőket. Ezek a készülékek az adott gyártó reagenskészleteit használják. A mérési folyamat onnan kezdve, hogy a páciensek mintáit megfelelő vonalkóddal ellátva betárazzák a mintaelemzőbe, addig hogy a mérési adatok bekerülnek a kórház informatikai rendszerébe, teljesen automatizált. A képen a Siemens cég által gyártott automatizált immunoassay mérőberendezést láthatjuk.



(http://www.medical.siemens.com/siemens/en_GLOBAL/gg_diag_FBAs/files/apps/IA_CC/ADVIA_Centaur_XP/ADVIA_Centaur_XP_Virtual_Tour_01_2010/ADVIA_Centaur_XP_Virtual_Tour_01_2010/ADVIA_Centaur_XP_virtual-tour-siemens.html)

4.2.2.1. ábra. A Siemens cég StreamLAB® – ADVIA Centaur® XP immunoassay mérőrendszere.
(A linkre kattintva megtekintheti a készülék működését)

4.2.3. Immunoassay-en alapuló tesztsíkok

Az ún. laterális áramlási tesztek egyszerű kivitelű tesztsíkok, amelyek a mintában valamilyen anyag jelenlétét, vagy hiányát képesek jelezni. Ezeket a teszteseteket leggyakrabban az orvosi diagnosztikában használják otthoni vizsgálatra, az orvosi ellátásban, vagy klinikai laboratóriumokban. A tesztsíkba a minta a kapilláris hatás miatt szívódik fel és halad végig. Miután a minta beszívódik, színes reagenssel találkozik, amellyel összekeveredik és magával viszi vonalakon (zónákon) keresztül, amelyekbe antitesteket, vagy antigéneket ágyaztak. A meghatározandó anyag jelenléte, vagy hiánya alapján a színes reagens megkötődhet a tesztvonalon, vagy zónán (4.2.3.1. ábra).



(<http://www.drugtestservices.com>)

4.2.3.1. ábra. A DrugTest Services, Inc. (Montgomery, AL, USA) cég tesztsíkja, amely egyszerre 5 fféle kábítószer kimutatására alkalmas vizeletből

A laterális áramlási tesztesetek működhetnek a szendvics, vagy kompetitív immunoassay elvén.

Színes reagensek

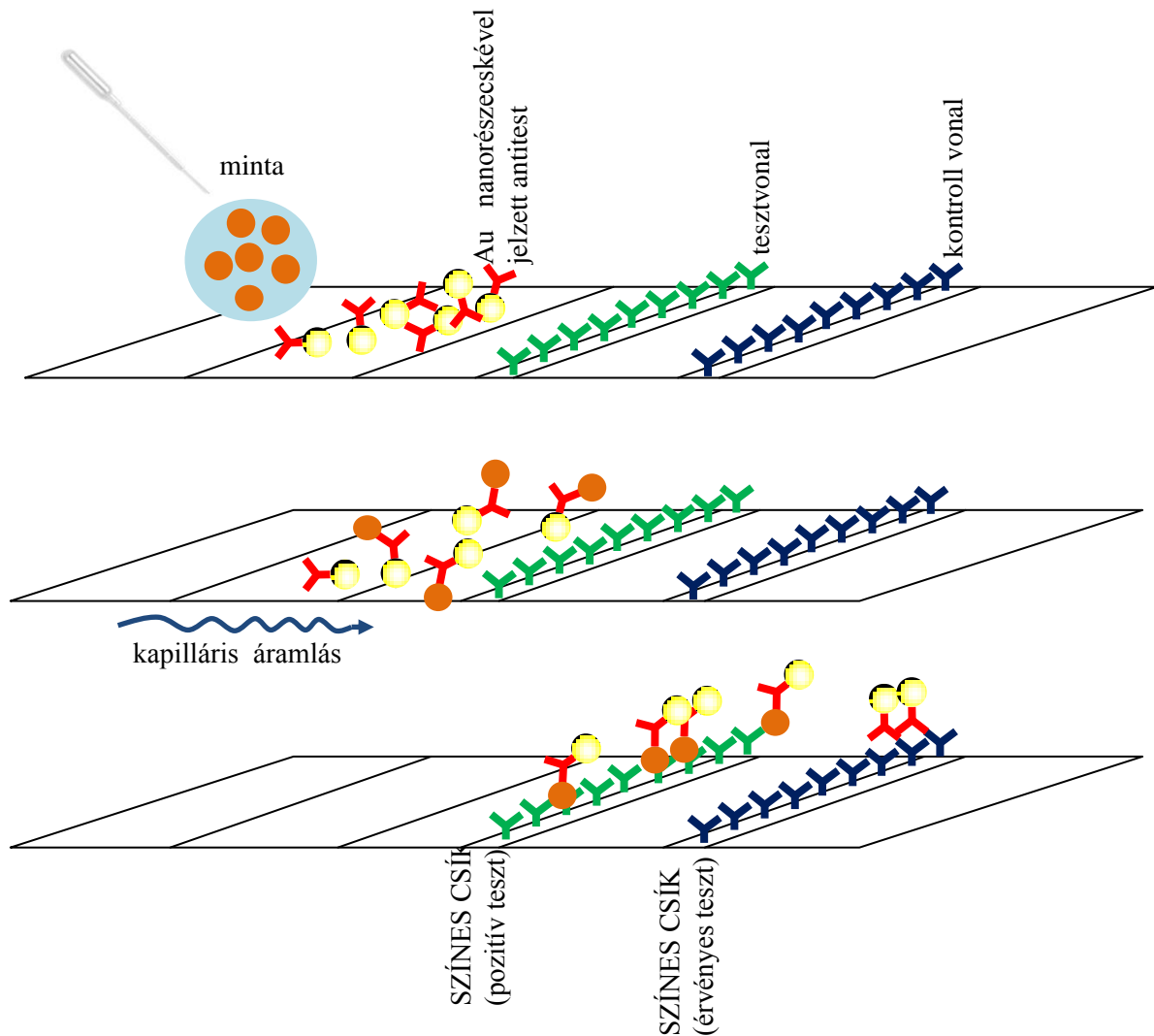
Jelölőanyagként színes részecskéket használnak, ilyenek a kék színű latexrészecskék, vagy a vörös színű arany nanorészecskék.

Kontroll vonal

A legtöbb tesztsík magában foglal egy második vonalat is, amely a színes részecskékkel jelzett immunreagenst köti meg, ezzel igazolva, hogy a teszt jól működik.

Szendvics módszer tesztsíkon

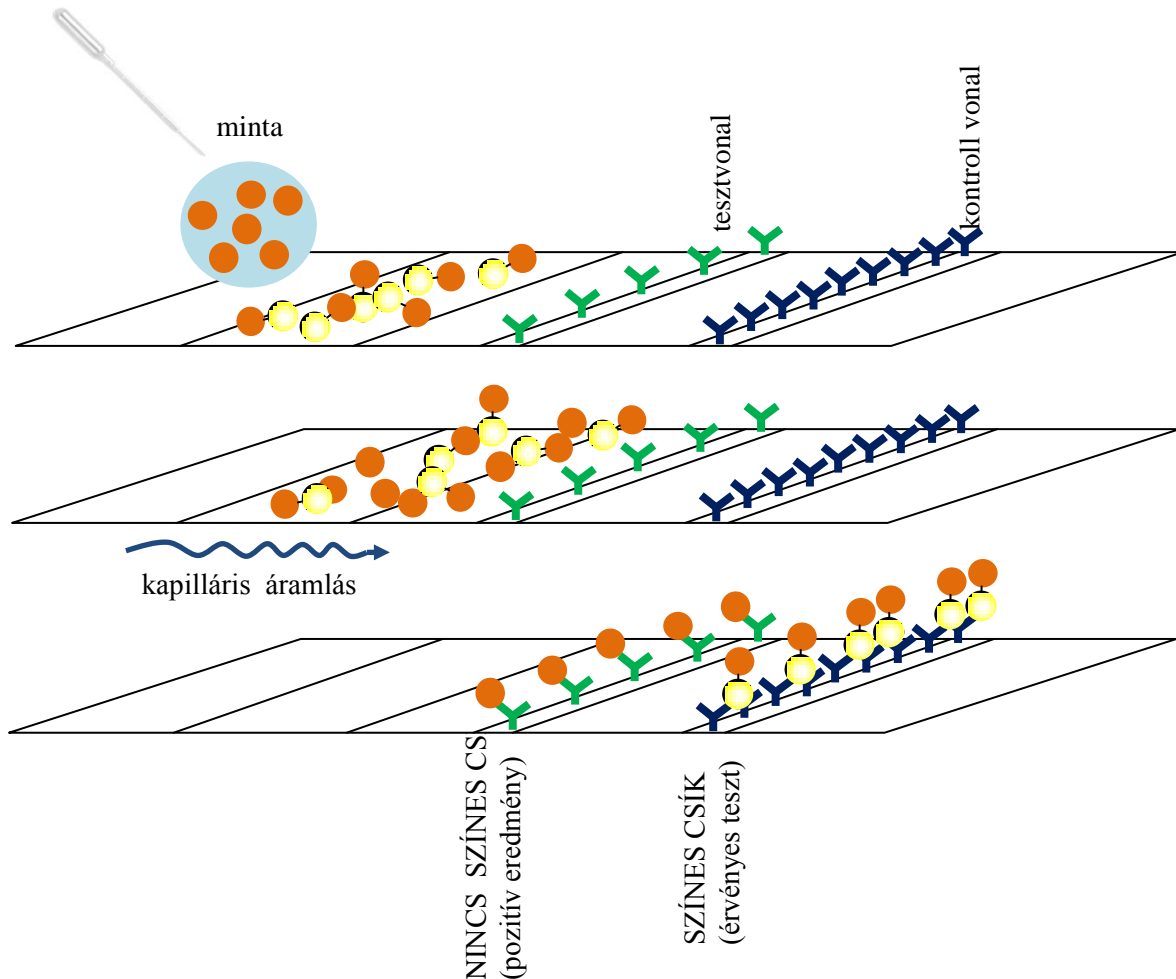
A minta először színes részecskékkel jelölt antitesttel találkozik, amely a mérendő anyagra, antigénre szelektív. A mintában levő antigén hozzáköt a színes részecskével jelölt antitesthez. A tesztvonal szintén a mérendő anyagra szelektív antitestet tartalmazza, amely az antigénnek egy másik epitópját ismeri fel és köti meg. Az antigént tartalmazó pozitív mintákban a tesztvonal tehát elszíneződik (4.2.3.2. ábra).



4.2.3.2. ábra. Szendvics immunoassay menete tesztsíkon

Kompetitív módszer tesztsíkon

A minta először színes részecskékkal találkozik, amelyek a mérendő antigénnel vannak módosítva. Ezekkel keveredve halad tovább. A tesztvonal az antigénre szelektív antitesteket tartalmazza. A mintában található jelöletlen antigén megkötődik az antitesteken, megakadályozva, hogy az megkösse az antigénnel jelölt színes részecskéket. A tesztvonal tehát ebben az esetben akkor színeződik el, ha a mintában nincs jelen a mérendő anyag (4.2.3.3. ábra).



4.2.3.3. ábra. Kompetitív immunoassay tesztsíkon

A legtöbb teszt igen/nem választ ad, vagyis csak kvalitatív kiértékelést tesz lehetővé. Lehetőség van azonban arra is, hogy a tesztvonal elszíneződésének méréséből mennyiségi meghatározást végezzünk. Ehhez megfelelő kézi műszerek, leolvasók szükségesek (4.2.3.4. ábra).



http://en.wikipedia.org/wiki/File:Example_of_handheld_lateral_flow_reader.jpg

4.2.3.4. ábra. Kézi (PDA alapú) tesztsík leolvasó készülék
(Detekt Biomedical, Austin TX, USA, www.idetekt.com)

Ezek adott hullámhosszúságú fényel megvilágítják a tesztvonalat, majd CCD (charge coupled device, http://en.wikipedia.org/wiki/Charged_coupled_device), vagy CMOS (complementary metal oxide semiconductor, [http://en.wikipedia.org/wiki/Complementary_metal %E2%80%93oxide%E2%80%93semiconductor](http://en.wikipedia.org/wiki/Complementary_metal_%E2%80%93oxide%E2%80%93semiconductor)) technológiával detektálják a visszavert fényt. A kapott képet megfelelő algoritmussal feldolgozva, a vonalak intenzitásából a minta koncentrációjára következtethetünk.

A tesztcsíkok nagyon gyors és egyszerű elemzést tesznek lehetővé. Már akár néhány perc várakozás is elég az eredményhez. Általában az elemzési idő és az érzékenység kompromisszumot követel. Minél rövidebb idő kell a teszt kifejlődéséhez, annál kevésbé érzékeny, és fordítva. A többi immunoassay-hez képest előnye még ennek a formának, hogy nem kell hozzá reagens és mintaelőkészítés sem szükséges, valamint képzett személyzet sem kell az elvégzéséhez.

Példák

Valószínűleg a legismertebb laterális áramlási tesztek az otthon végezhető terhességi tesztek. Ezen kívül még rengeteg felhasználásuk van, rendelkezésünkre állnak gyors tesztek HIV¹⁵, troponin T¹⁶, malária, kábítószer, termékenység, légzőszervi megbetegedések stb. detektálására is. Az állat és humán diagnosztikai célokra készült klinikai tesztek vizelet, nyál, vér és széklet minták analizálására lehet használni. Léteznek tesztcsíkok nem klinikai alkalmazásokra is, mint például a víz és élelmiszerek szennyeződését kimutató tesztek, vagy a biológiai fegyverek és egyéb környezet-szennyezők kimutatását célzó tesztek.

¹⁵ HIV – human immunodeficiency virus, az AIDS vírusa

¹⁶ Troponin T – fehérje, amely a szívinfarktuskor szabadul fel az elhalt szívizomból.

5. ELLENŐRZŐ KÉRDÉSEK

1. Milyenek az immunoassay módszerek analitikai jellemzői (kimutatási határ, szelektivitás) összehasonlítva más analitikai módszerekkel?
2. Határozza meg a következőket: antitest (más néven ellenanyag), antigén, haptén, epitóp, immunkomplex.
3. Milyen molekulák az ellenanyagok, mit tud a szerkezetükről?
4. Milyen kémiai kölcsönhatások alakulnak ki az immunkomplexben, hogyan magyarázza ezek alapján a módszer szelektivitását és alsó kimutatási határát?
5. Hogyan állítják elő az immunoassayek-hez az ellenanyagokat (poliklonális, monoklonális, rekombináns)?
6. Hogyan csoportosíthatóak az immunoassay módszerek?
7. Milyen jelölés nélküli immunanalitikai módszereket ismer? Hogyan működnek ezek?
8. Milyen jelölési technikákat ismer?
9. A versengés szerint hogyan oszthatóak fel az immunoassay eljárások? Hogyan kivitelezük az egyes típusokat?
10. A kompetitív és az immunmetrikus immunoassay jellemzőinek összehasonlítása (alsó kimutatási határ, kalibrációs függvény, antigén mérete, reagensfelesleg).
11. Mik a heterogén és homogén fázisú immunoassay-ek jellemzői? Hasonlítsa össze ezeket!
12. Hogyan működik a fluoreszcencia polarizációs immunoassay?
13. Hogyan működik az EMIT?
14. Milyen lépésekből áll az ELISA-mérés?
15. Hogyan működnek az immunoassay-en alapuló tesztsíkok?

IV. FÜGGELÉK

Tartalom

Irodalomjegyzék a Spektroszkópia (III.B.) fejezethez	400
Ábrák, videók, táblázatok jegyzéke.....	401
Ábrák.....	401
Videók	401
Táblázatok.....	408

IRODALOMJEGYZÉK A SPEKTROSKÓPIA (III.B.) FEJEZETHEZ

- Billes F.: Kémiai anyagszerkezetten, Műegyetemi Kiadó, Budapest, azonosító: 65005, 1993.
- Budó Á., Mátrai T.: Kísérleti fizika II., Tankönyvkiadó, Budapest, ISBN 963 18 3276 7, ISBN 963 18 3277 5 1991.
- Budó Á., Mátrai T.: Kísérleti fizika III., Tankönyvkiadó, Budapest, ISBN 963 18 1556 0, ISBN 963 18 1555 2 1989.
- Cammann, K.: Instrumentelle Analytische Chemie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, ISBN 978-3-8274-2739-7, 1. Auflage 2001, Nachdruck 2010.
- Colthup N. B., Daly L. H., Wiberley S. E.: Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, Academic Press, Inc., Boston – San Diego – New York – London – Sydney – Tokyo – Toronto, ISBN 0-12-182554-X, 1990, third edition.
- de Hoffmann E., Stroobant V.: Mass Spectrometry Principles and Applications, Wiley, Chichester, ISBN 978-0-470-03310-4, 978-0-470-03311-1, 2007.
- Dinya Z.: Szerves tömegspektrometria, Debreceni Egyetem Kossuth Egyetemi Kiadó, Debrecen, 2001.
- Harris D. C.: Quantitative Chemical Analysis, fourth edition, W. H. Freeman and Company, New York, ISBN 0-7167-2508-8, 1995.
- Hollósi M., Laczkó I., Majer Zs.: A sztereokémia és kiroptikai spektroszkópia alapjai, Nemzeti Tankönyvkiadó Rt., Budapest, ISBN 963 19 4959 1, 2004.
- Kékedy L.: Műszeres analitikai kémia I., Kolozsvár, ISBN 973-96946-2-4, 1995.
- Kőmíves J.: Környezeti analitika, Műegyetemi Kiadó, Budapest, Phare HU 94.05/0101-LO 15/20, 1998.
- Kristóf J.: Kémiai Analízis II. (Nagyműszeres analízis), Veszprémi Egyetemi Kiadó, Veszprém, ISBN 963 9220 34 5 Ö, 963 9220 35 3, 2000.
- Nagné Szép A.: Újszerű Raman mikroszkópiai alkalmazások összetett anyagok technológiájában, PhD értekezés, BME, 2006.
- Nölte J.: ICP Emission Spectrometry: A practical Guide, Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 3-527-30672-2, 978-3-527-30672-5 2003.
- Otto M.: Analytische Chemie, 4. überarbeitete und ergänzte Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, ISBN 978-3-527-32881-9, 2011.
- Pokol Gy., Sztatisz J.: Analitikai kémia I., Műegyetemi Kiadó, Budapest, azonosító: 65028, 1999.
- Petrozzi S.: Instrumentelle Analytik, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, ISBN 978-3-527-32484-2, 2010.
- Pungor E.: Analitikusok kézikönyve, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, ISBN 963 10 7053 0, 1987.
- Thomas R.: Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, second edition, CRC Press, ISBN 1420067869, 9781420067866, 2008.
- Tóth G., Balázs B.: Szerves vegyületek szerkezetfelderítése, Műegyetemi Kiadó, Budapest, azonosító: 65037, 2005.
- Welz B., Sperling M.: Atomic Absorption Spectrometry, third edition, Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 3-527-28571-7, 978-3-527-28571-6 2007.
- Záray Gy. (szerk.): Az elemanalitika korszerű módszerei, Akadémiai Kiadó, Budapest, ISBN 9789630582438, 2006.

ÁBRÁK, VIDEÓK, TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

ÁBRÁK

I. Bevezető

1.2.1.1. ábra. A trigliceridek szerkezeti képlete	8
1.2.1.2. ábra. Az olajsav és a sztearinsav szerkezeti képlete	8
1.2.1.3. ábra. Sav-bázis meghatározás titrálási görbéje a pH a kálium-hidroxid mérőoldatfogyás függvényében	10
1.2.1.4. ábra. A fenolftalein szerkezeti képlete	10
1.2.3.1. ábra. Az atomszínképek keletkezése	12
1.2.3.2. ábra. Színkép: intenzitás a hullámhossz (vagy a frekvencia vagy az energia) függvényében. A színkép szabad atomok esetében vonalas (a molekulaszínképek általában sávos szerkezetűek)	12
1.2.3.3. ábra. Az atomforrásban végbemenő folyamatok	13
1.2.3.4. ábra. Atomabszorpciós mérés vázlata	14
1.2.3.5. ábra. Érzékenység grafikus meghatározása	14
1.2.3.6. ábra. Moduláció okozta periódikus jelváltozás	15
1.2.5.1. ábra. Dinamikus koncentráció egyensúly (x: távolság a kolonnán az injekciós ponttól Δt: kis idő elteltével)	17
1.2.5.2. ábra. Gázkromatográfiás elválasztás	17
1.2.5.3. ábra. Poli(etilén-glikol) – PEG szerkezeti képlete	18
1.2.5.4. ábra. Az FID-detektor vázlata	18
1.2.5.5. ábra. Detektorjel az idő függvényében	19

II. Klasszikus analitika – A. Titrimetria

2.1.2.1. ábra. Logaritmikus egyensúlyi diagram, ha a mérendő erős bázis 0,01 M-os	27
2.1.3.1. ábra. Titrálási görbe, ha a mérendő erős bázis 0,01 M-os	28
2.1.3.2. ábra. Titrálási görbe változása különböző koncentrációjú erős sav, illetve erős bázis titrálása esetén	29
2.1.5.1. ábra. A metilvörös pH függő egyensúlya	32
2.2.2.1. ábra. Egyértékű gyenge sav vagy bázis logaritmikus egyensúlyi diagramja	36
2.2.4.1. ábra. Gyenge savak titrálási görbéi	37
2.2.5.1. ábra. A pufferek tompító hatása 50%-os titrálási fok körül	38
2.2.6.1. ábra. A fenolftalein pH függő egyensúlya	39
2.2.6.2. ábra. A metilvörös pH függő egyensúlya	40
2.3.1.1. ábra. A szén-sav logaritmikus egyensúlyi diagramja	42
2.3.2.1. ábra. Foszforsav logaritmikus egyensúlyi diagramja $c_0 = 0,1 \text{ M}$	43
2.3.2.2. ábra. 10 ml 0,1 mólos foszforsav titrálása 0,1 mólos NaOH-dal	43
3.1.1.1. ábra. Etilén-diamin (en)	51
3.2.1.1. ábra. Az EDTA szerkezeti képlete 6 fogú ligandum (2 N és 4 O): igen stabil komplexeket képez	52
3.2.1.2. ábra. 1 EDTA általában 1 fémionnal képez kelátkomplexet. A komplexek oktaédres szerkezetűek (a donor O és N atomok az oktaéder csúcsain, a fémion a középpontban foglal helyet)	52
3.2.3.1. ábra. A $\lg \alpha_H$ változása a pH függvényében	53
3.2.3.2. ábra. Néhány fémion $\lg K'_{st}$ értéke a pH függvényében	54
3.2.4.1. ábra. Különböző fémiontartalmú oldatok titrálása EDTA-val (titrálási görbék)	54
4.1.2.1. ábra. Ezüst-halogenid csapadék logaritmikus egyensúlyi diagramja	60
4.1.2.2. ábra. Két ezüst-halogenid csapadék logaritmikus egyensúlyi diagramja	61
4.1.3.1. ábra. Mohr-módszer szerinti argentometriás titrálás végpontjelzéséhez a csapadékok egyensúlyi diagramja	63
5.1.3.1. ábra. A két redoxrendszer újabb és újabb (közös) egyensúlyi potenciál értékre áll be	71
5.1.4.1. ábra. Különböző standard redoxipotenciálú rendszerek	73
5.2.1.1. ábra. Oxalát szerkezeti képlete	74

II. Klasszikus analitika – B. Gravimetria

1.1.2.1. ábra. A diacetil szekezeti képlete	85
---	----

III. Műszeres analitika – A. Elektroanalitika

1.1.1.1. ábra. Az alapvető elektroanalitikai módszerek csoportosítása	88
2.2.1.1. ábra. Átvitel nélküli rövidre zárt cella (A), átviteles cella „U” alakú sóhíddal (áramkulccsal) (B) és átvitel nélküli cella (C)	93
2.2.2.1. ábra. Potenciometriás mérési elrendezés	93
2.3.1.1. ábra. Ezüst/ezüst-klorid és kettős sóhidas ezüst/ezüst-klorid referenciaelektrod	96
2.3.2.1. ábra. Telített kalomelektrod felépítése	98
2.3.3.1. ábra. A diffúziós potenciál kialakulásának szemléltetése folyadék folyadék határfelületen ...	98
2.4.2.1. ábra. Mérési elrendezés potenciometriás titrálásokhoz	102
2.4.2.2. ábra. Potenciometriás titrálási görbe a Fe^{2+} tartalmú minta Ce^{4+} -mérőoldattal történő meghatározása esetében	104
2.4.2.3. ábra. Elsőfajú (Ag/Ag^+) és másodfajú ($Ag/AgCl, Cl^-$) indikátorelektrodokon alapuló potenciometriás mérési elrendezések	104
2.4.3.1. ábra. Az ionszelektív elektrodok tipikus felépítése	106
2.4.3.2. ábra. Egy kalciumion-szelektív elektrod kalibrációs görbéje a kalciumion-aktivitása és koncentrációja függvényében. A kalibrálást nagyságrendenként növekvő koncentrációjú kalcium-klorid oldatokkal végeztük	107
2.4.4.1. ábra. Az üvegmembrán szerkezetének sematikus ábrázolása	110
2.4.4.2. ábra. Az üvegelektrodot tartalmazó potenciometriás mérőcella felírása	111
2.4.4.3. ábra. Potenciometriás mérési elrendezés kombinált üvegelektrod esetében	112
2.4.4.4. ábra. Az üvegelektrod kalibrációs görbéje különböző hőmérsékleten	113
2.4.4.5. ábra. (A) Fluoridion vándorlásának sematikus ábrázolása az Eu^{2+} -val adalékolt LaF_3 kristályban (a szaggatott vonallal az adalékolás során generált hibákat jelöltük). (B) A fluoridion-szelektív elektrod felépítése	115
2.4.5.1. ábra. Philips elektrod test alapú folyadékmembrán elektrodok vázlatos felépítése és fényképe	117
2.4.5.2. ábra. K^+ -szelektív membrán összetétele és az aktív komponensek szerepének szemléltetése. Káliumion-szelektív ionoforként valinomicint (természetes eredetű makrociklusos vegyület), kationcserélőként pedig tetrafenilborát származékot tartalmaz a bis(2-etilhexil)szebacáttal lágyított PVC-membrán	118
3.1.1.1. ábra. Harang alakú vezetőképességi cella	121
3.1.1.2. ábra. Az elektrodgeometria és a váltóáram hatásának sematikus ábrázolása	121
3.1.3.1. ábra. Néhány elektrolit fajlagos vezetéseinek változása az elektrolit koncentrációjának függvényében	124
3.2.1.1. ábra. Egyes ionok hozzájárulása az oldat vezetéséhez erős sav (HCl) erős lúggal történő titrálásakor (szaggatott vonal) és a mért vezetés (V alakú görbe)	125
3.2.2.1. ábra. Konduktometriás sav-bázis titrálási görbék	126
3.2.2.2. ábra. Sósav és ecetsav keverék NaOH-mérőoldattal való meghatározása során kapott konduktometriás titrálási görbe	127
3.2.2.3. ábra. Kloridion konduktometriás titrálása ezüst-nitráttal	127

III. Műszeres analitika – B. Spektroszkópia

1.1.1.1. ábra. Elektromágneses sugárzás a terjedés irányára merőlegesen osszcillál	132
1.1.1.2. ábra. Fénysugár polarizáltsága	133
1.1.1.3. ábra. Spektrum típusok	135
1.1.2.1. mozgó ábra. Fénytörés a közeghatáron, teljes visszaverődés határszöge	136
1.1.2.2. mozgó ábra. Teljes visszaverődés jelensége prizmaiban	137
1.1.3.1. ábra. A nátriumatom termdiagramja	139
1.1.3.2. mozgó ábra. Kétatomos molekula potenciális energiája az atommegtávolság függvényében	139
1.2.1.1. ábra. Hidrogén kisülési lámpa	145
1.2.2.1. ábra. Összetett üvegszűrők spektrális jellemzői	147

1.2.3.1. ábra. A prizma fényfelbontása.....	148
1.2.3.2. mozgó ábra. Reflexiós rács működési elve	149
1.2.3.3. ábra. Echelle-rács működési elve	150
1.2.3.4. mozgó ábra. Ebert elrendezésű síkrácsos monokromátor működési elve	151
1.2.3.5. ábra. Pashen–Runge elrendezésű polikromátor	152
1.2.3.6. ábra. Echelle-rácsos polikromátor	153
1.2.3.7. ábra. Michelson-interferométer	154
1.2.3.8. ábra. Interferogram (5 különböző hulláhhosszú komponenst tartalmazó polikromatikus sugárzás esetén).....	155
1.2.4.1. ábra. Fotocella felépítése.....	156
1.2.4.2. ábra. Fotoelektron-sokszorozó felépítése	157
1.2.4.3. ábra. A szennyezéses n- és p-típusú félvezetők sávmodelljei	158
1.2.4.4. ábra. Fotodióda felépítése.....	158
1.2.4.5. ábra. Egyfényutas UV-VIS-spektrométer diódasoros detektorral	159
1.2.6.1. ábra. Atomabszorpciós mérés elvi vázlata	162
1.2.6.2. ábra. Molekulaabszorpciós mérés elvi vázlata	162
1.2.6.3. ábra. Abszorpciós spektrofotométer alaptípusok (UV, VIS, IR) blokkdiagramjai.....	163
1.2.6.4. ábra. Spektrofluorométer felépítése.....	165
2.1.4.1. ábra. Szabadatomok, szabadionok előállítása és meghatározása atomemissziós, atomabszorpciós, atomfluoreszcenciás és tömegspektrometriás elven	172
2.1.4.2. ábra. Sok elemet tartalmazó minta emissziós spektrumának részletei a 270 nm–246 nm és a 300 nm–268 nm hullámhossztartományban.....	173
2.1.4.3. ábra. A nátrium termvázlata és emissziós spektruma.....	174
2.1.5.1. ábra. Az atomemissziós elv atomi folyamatai és az atomemissziós készülék felépítése	175
2.1.5.2. ábra. Az atomabszorpciós elv atomi folyamatai és az atomabszorpciós készülék felépítése (E_p , E_q = energiaszintek).....	176
2.1.5.3. ábra. Az atomfluoreszcenciás elv atomi folyamatai és az atomfluoreszcenciás készülék felépítése (E_p , E_q = energiaszintek)	177
2.1.5.4. ábra. A külső ionforrással működő tömegspektrometriás módszert kísérő atomi folyamatok és az ICP-MS-spektrométer felépítése.....	179
2.1.6.1. ábra. Diffúziós és előkevert láng felépítése.....	181
2.1.6.2. ábra. Égőfej sorozat: levegő-propán, levegő-acetilén és dinitrogén-oxid-acetilén lánghoz ...	182
2.1.6.3. ábra. Alkáli és alkáliföldfémek emissziós spektruma levegő-acetilén lángban.....	182
2.1.6.4. ábra. Nagyfeszültségű szikra sugárforrás és a szikrakisülés	184
2.1.6.5. ábra. Elektródelrendezés szikra sugárforrásban és vizsgálati minták képei	184
2.1.6.6. ábra. A szikrakisülés képe és a szikrakisülés hatására alumíniumminta felületén keletkezett kráterek.....	185
2.1.6.7. ábra. Az induktív csatolású plazma sugárforrás részegységei és fényképe.....	186
2.1.6.8. ábra. Az induktív csatolású plazma felépítése és működése	187
2.1.6.9. ábra. Az ICP plazma leképezési módjai	188
2.1.6.10. ábra. Hosszirányú (a) és keresztirányú fűtés megvalósítása és a cső hőmérsékleteloszlása (grafitcsőfal 1. bemérő nyílás 2. grafit segédelektrodok 3. csövek és grafit segédelektrodok fényképei)	190
2.1.7.1. ábra. Mintabevitel kapcsolt forrásokba (a) és integrált forrásokba (b).....	191
2.1.7.2. ábra. Az atomspektroszkópiai módszerek és az ICP-MS-módszer folyamatai	192
2.1.7.3. ábra. A koncentrikus, pneumatikus porlasztó felépítése, az aeroszol kialakulásának fázisai	194
2.1.7.4. ábra. Atomabszorpciós készülék porlasztója és primer aeroszol.....	195
2.1.7.5. ábra. A láng-AAS-készülék indirekt porlasztó egységének elvi felépítése. Az égőfejen kilépő aeroszol fényképe	196
2.1.7.6. ábra. Az aeroszol cseppméreteloszlásának változása a porlasztókamrában	196
2.1.7.7. ábra. Az induktív csatolású plazma sugárforráshoz gyakrabban alkalmazott porlasztók.....	197
2.1.8.1. ábra. A minta atomizációja áramló közegű forrásokban	198
2.1.9.1. ábra. A háttér értelmezése és háttérkorrekció az atomemissziós és az atomabszorpciós méréseknél.....	201

2.3.1.1. ábra. Paschen–Runge rendszerű polikromátoros szikraspektrométer fotoelektron-sokszorozó detektor.....	203
2.3.1.2. ábra. Paschen–Runge rendszerű polikromátoros szikraspektrométer CCD-detektor sorokkal	203
2.3.1.3. ábra. A szikrasugárforrás optikai csatolása mobil szikraspektrométerben	204
2.4.2.1. ábra. Az ICP-OES-készülék egységei	206
2.4.2.2. ábra. Koncentrikus porlasztó az ICP-OES-készülékhez.....	207
2.4.2.3. ábra. Szögporlasztók ICP-OES-készülékhez.....	208
2.4.2.4. ábra. V-porlasztó ICP-OES-készülékhez. Előlnézet és oldalnézet.....	208
2.4.2.5. ábra. Axiális és radiális kombinált leképező rendszer ICP-OES-készülékhez.....	209
2.6.3.1. ábra. CCD-detektorstruktúrák	210
2.4.3.2. ábra. Echelle polikromátoros ICP-OES-készülék optikai vázlata	210
2.4.3.3. ábra, Echellogram felépítése és megjelenése a készülék képernyőjén teljes pixelképként és kinagyított részleten	211
2.4.3.4. ábra. A pixelkép szoftveres konverziója spektrummá. A tallium dublett felbontásának bemutatása: 190.864 nm és 190.878 nm, egy pixel= 0,0035 nm	212
2.4.3.5. ábra. Echelle polikromátoros ICP-OES-készülék polikromátorának fényképe a fényút rajzos megjelenítésével.....	212
2.4.4.1. ábra. Alumínium (10 mg/l) ICP-spektruma a 190–270 nm hullámhossztartományban	213
2.4.4.2. ábra. Vas (10 mg/l) ICP-spektruma a 190–270 nm hullámhossztartományban	213
2.4.4.3. ábra. Volfrám (10 mg/l) ICP-spektruma a 190–270 nm hullámhossztartományban	213
2.4.4.4. ábra. A vonal melletti háttérkorrekció elve ICP-OES-mérésnél	214
2.4.4.5. ábra. Háttérkorrekció vízszintes háttér esetén	215
2.4.4.6. ábra. Háttérkorrekció egyenes háttér esetén	215
2.4.4.7. ábra. Háttérkorrekció görbe háttér esetén.....	215
2.4.5.1. ábra. Ezüst ICP-OES-módszerrel kapott kalibrációs függvényei a 0–100 mg/l és a 0–1000 mg/l tartományban.....	216
2.5.2.1. ábra. Folytonos spektrumú fényforrással működő AAS-készülék felépítése	218
2.5.3.1. ábra. Vájtkatódú lámpával működő atomabszorpciós készülék felépítése.....	219
2.5.3.2. ábra. A vájtkatódú lámpa felépítése és működése. Különböző konstrukciójú vájtkatódú lámpák fényképei és a működő lámpa katódüregének képe	220
2.5.3.3. ábra. Vájtkatódú lámpa spektrumok.....	221
2.5.3.4. ábra. Az AAS-mérés detektorjele lámpaintenzitás-modulálás nélkül (a) és lámpaintenzitás-modulálással (b)	222
2.5.3.5. ábra. Különböző elemek atomabszorpciós kalibrációs görbéi	222
2.5.4.1. ábra. A láng-AAS-készülék porlasztó-égő egységének felépítése	223
2.5.4.2. ábra. A láng-AAS-készülék porlasztó-égő egységének fényképe.....	223
2.5.4.3. ábra. A 10 cm-es levegő-acetilén láng képe oldal- és előlnézetben	224
2.5.4.4. ábra. Különböző beállítású, oxidáló(fuel lean), sztöchiometrikus és redukáló (fuel rich) levegő-acetilén és dinitrogén-oxid-acetilén láng képe	225
2.5.4.5. ábra. Szulfát- és foszfátzavarás kalcium meghatározásakor levegő-acetilén lángban.....	226
2.5.4.6. ábra. Cézium ionizációs puffer hatása kálium meghatározásakor levegő-acetilén lángban és kálium kalibrációs görbéje céziomadalékkal és adalék nélkül.....	227
2.5.5.1. ábra. Grafitkemence mérőfej és a műszer főbb egységei	229
2.5.5.2. ábra. Grafitkemence fűtémódjai: (a) gyors fűtés, általában maximális teljesítménnyel fűtünk a kívánt hőmérséklet eléréséig, (b) normál fűtés, a fűtési sebesség nem szabályozott, (c) lassú fűtés, a fűtési sebességet szabályozzuk (szárítás, hőkezelés)	230
2.5.5.3. ábra. Grafitkemence AAS-készülék	231
2.5.5.4. ábra. A grafitkemence automata mintabemérőjének működése	232
2.5.5.5. ábra. A mintatartóbetét szerepe az atomizálásban. Mintatartóbetét típusok és behelyezésük: (a) grafitcső, (b) sík betét (L`vov platform), (c) ívelt betét, (d) beépített, ívelt betét. A különböző zónák hőmérsékletének változása az idő függvényében: a csőfal hőmérséklete, T_w ; a gáztér hőmérséklete, T_g ; a mintatartóbetét hőmérséklete, T_{pl} . A platform hőmérsékletkécsletetése, t_d	233
2.5.5.6. ábra. Grafitkemencés elemzés jelei, korrigált abszorbancia és háttérabszorbancia	234

2.5.5.7. ábra. Kadmium grafitkemencés hőkezelési és atomizálási görbéi: (a, zöld görbe) adalék nélkül felvett hőkezelési görbe A_L-T_h , (b, kék görbe) palládium-magnézium mátrixmódosító adalékkal felvett hőkezelési görbe A_L-T_h , (c, piros görbe) a háttérszorbancia változása a hőkezelési hőmérséklet függvényében A_B-T_h , (d) és az atomizálási görbe	235
2.5.6.1. ábra. Folyamatos elvű higany-hidrid készülék	237
2.6.1.1. ábra. Kis felbontású kvadrupol készülékkel felvett ICP-MS-tömegspektrum részlete	242
2.6.1.2. ábra. Kis felbontású kvadrupol készülékkel felvett ICP-MS-tömegspektrum részlete a készülék monitorán.....	242
2.6.1.3. ábra. A Fe^{56+} - és az ArO^{56+} -ionok ICP-MS-spektruma kis ($R = 150$) és nagy felbontással ($R = 10000$)	243
2.6.2.1. ábra. ICP-MS-készülék fő egységei	243
2.6.2.2. ábra. Az ICP-MS-készülék csatoló egységének felépítése és működése	244
2.6.2.3. ábra. Nikkelkónuszok. A plazmaégő a mintavevő kónusz előtt.....	245
2.6.3.1. ábra. Kvadrupol ICP-MS-készülék felépítése	247
2.6.3.2. ábra. Kvadrupol ICP-MS-készülék felülnézeti képe. A fénykép az ütközőcella behelyezését is szemlélteti.....	247
2.6.6.1. ábra. Ütközőcellába adagolt hélium hatása a $^{56}Fe^+$ helyen és a $^{59}Co^+$ helyen.....	250
2.6.7.1. ábra. Kettős fókuszálású ICP-MS-készülék felépítése: (1) plazma ionforrás, (2) csatoló egység, (3, 4) ionfókuszáló egység, (5) belépő rész, (6) mágneses analízátor egység, (7) elektrosztatikus analízátor egység, (8) kilépő rész, (9) ion-elektron konverter, (10) elektronsokszorozó.....	251
3.1.1.1. ábra. A molekulában a gerjesztés során lejátszódható elektronátmenetek	253
3.1.2.1. ábra. Eltérő konstrukciójú küvetták.....	255
3.1.2.2. ábra. Az akridon UV-VIS-spektruma UNICAM UV4-100 spektrométer, oldószer = metanol, $c = 20 \mu M$; $l = 1 cm$ (kvarcküvetta).....	256
3.1.3.1. ábra. Izobesztikus pont (501 nm). A brómtimolkék spektruma különböző pH-értékeken (a: pH=5,45, b: pH=6,95, c: pH=7,50, d: pH=11,6)	259
3.1.4.1. ábra. Fotometriás titrálási görbék	260
3.2.1.1. ábra. Az akridon gerjesztési (kék) és emissziós (piros) fluoreszcenciaspektrumai Perkin Elmer LS 50B spektrofluoriméter, oldószer = metanol, $c = 1 \mu M$ (kvarcküvetta).....	266
3.3.1.1. mozgó ábra. Harmonikus oszcillátor	270
3.3.1.2. mozgó ábra. Metilénsoport lehetséges vegyérték- és deformációs rezgései.....	272
3.3.2.1. ábra. Többszörös belső reflexió.....	276
3.3.3.1. ábra. Az akridon infravörös spektruma Perkin Elmer System 2000 FT-IR-spektrométer, MCT-detektor, optikai felbontás: $4 cm^{-1}$, akkumulációk száma: 64, alapvonal korrigált spektrum, KBr pasztilla: 1 mg minta/300 mg KBr	278
3.3.3.2. ábra. Néhány funkciós csoport jellemző elnyelési tartományai	279
3.3.6.1. ábra. Az akridon Raman-spektruma (Horiba–Jobin Yvon Labram spektrométer: $\lambda_0 = 532 nm$, Nd:YAG-szilárdtestlézer, CCD-detektor, expozíciós idő: 2 sec, akkumulációk száma: 20, alapvonal korrigált spektrum)	282
3.3.6.2. ábra. A poli(etilén-vinilacetát) kopolimer felületen és a felület alatti rétegekben a felülettől mért távolság függvényében felvett Raman-spektrumai	283
4.1.2.1. ábra. A tetrahidropirán (A) és a piperazin (B) szerkezete és az elválasztásukhoz szükséges felbontás mértéke	286
4.1.3.1. ábra. 2-hexanon tömegspektruma és az egyes m/z értékekhez tartozó jelek intenzitása a báziscsúchoz képest. (A National Institute of Standards adatbázisból).....	287
4.1.3.2. ábra. Az akridon tömegspektruma. Shimadzu QP-2010 GC-MS-készülék, kvadrupol analízátor	288
4.1.3.3. ábra. A 2-hexanon jellemző fragmentációs reakciói	288
4.2.1.1. ábra. A tömegspektrométer blokkdiagramja. Az injektor nem mindig van vákuum alatt.....	289
4.2.3.1. mozgó ábra. Az elektron ionizációs ionforrás felépítése.....	291
4.2.3.2. ábra. Az elektroporlasztásos ionizációs ionforrás felépítése	294
4.2.4.1. ábra. A mágneses analízátor felépítése.....	295
4.2.4.2. ábra. A kettős fókuszálású analízátor felépítése	296
4.2.4.3. ábra. A lineáris kvadrupól felépítése	297
4.2.4.4. mozgó ábra. A repülési idő analízátor felépítése és működése	298

4.2.4.5. ábra. Az elektrosztatikus csapda (Orbitrap) analizátor felépítése	299
4.2.5.1. ábra. A Faraday-cella felépítése	300

III. Műszeres analitika – C. Elválasztástechnika

1.1. mozgó ábra. Térbeli elválasztás detektálása	309
2.1.4.1. mozgó ábra. Elválasztás oszlopon	311
2.1.5.1. mozgó ábra. Gázkromatográfiás elválasztás	312
2.1.5.2. Dinamikus koncentráció egyensúly (x: távolság a kolonnán az injektálási ponttól Δt : kis idő elteltével)	312
2.1.5.3. ábra. Nem lineáris kromatográfiában az izoterma nem lineáris	313
2.1.5.4. ábra. Lineáris kromatográfiában az izoterma lineáris	314
2.1.5.5. mozgó ábra. Megoszlás számítási feladat	314
2.1.6.1. ábra. Detektorjel az idő függvényében	315
2.1.7.1. mozgó ábra. Zónaszélesedés, megtörténik-e az alapvonal elválás	316
2.1.7.2. ábra. A Gauss-görbe tulajdonságai	317
2.1.7.3. ábra	317
2.1.7.4. ábra. A zóna a csúcs előrehaladásával szélesedik	318
2.1.7.5. mozgó ábra. Számítási feladat	319
2.1.7.6. mozgó ábra. Az elméleti tányérszám bemutatása kromatogramon	319
2.1.7.7. ábra. van Deemter-összefüggés	320
2.1.8.1. ábra. A felbontás grafikus értelmezése	321
2.1.8.2. ábra	322
2.1.10.1. ábra. A gázkromatográfiás készülékek általános felépítése. A kolonna termosztálva van. D: detektor	323
2.1.10.2. ábra. Gázkromatográfiás állófázisok a gáz-folyadék megoszlásos gázkromatográfiában. Bal oldalon: egy töltött oszlop töltetéből egyetlen szemcse. Jobb oldalt felül: a fenti példában leírt rendszer, (WCOT: wall coated open tubular column). Jobb oldalt alul: az előbbihez hasonló, de a megosztófolyadék hordozóra felvitt formában (SCOT: support coated open tubular column)	324
2.1.10.3. ábra. Folyadékkromatográfiás rendszer sematikus felépítése	324
2.1.10.4. ábra. Vékonyréteggkromatográfiás lap, illetve a mérés után kapott eredmény	324
2.1.11.1. ábra. Hatágú bemérő csap működési vázlata a) a mintatér fogat bemérése, b) bevétel a gázkromatográfba	325
2.2.4.1. ábra. WCOT: Wall Coated Open Tubular Colum	332
2.2.4.2. ábra. PLOT: Porous Layer Open Tubular Colum	334
2.2.5.1. ábra. Gázkromatográfiás készülék	334
2.2.5.2. ábra. Automata mintaadagoló gázkromatográfhoz	335
2.2.5.3. ábra. A gázkromatográfiás rendszer részegységei egymás mellé fektetve abban az elrendezésben, ahogy majd összekötésre kerülnek: folyadékminta fecskendő, gumitömítés (szeptum), amin a fecskendő tűjét átszúrjuk, elpárologtató tér üveg bélésű üveggyapot töltettel, kapilláris oszlop, fém csatlakozó elem, lángionizációs detektor háza	335
2.2.5.4. ábra. Gáz minták bemérésére szolgáló fecskendő (Hamilton-fecskendő)	335
2.2.5.5. ábra. Folyadékkromatográfiás rendszer részlete. Jobb felső sarokban: automata mintaadagoló (bent injektorral, ami nem látszik). Alatta: két HPLC pumpa, amiből csak a felső van éppen használatban. Bal oldalt alul: HPLC oszlop. A detektor az ábrán nem látszik. A csavaros kupakú üvegek eluenstartályok	336
2.2.5.6. ábra. HPLC-oszlopok és -töltetek (üvegben)	336
2.2.5.7. ábra. HPLC-injektor cserélhető adagolóhurkokkal	336
2.2.5.8. ábra. Spektrofotometriás HPLC detektorhoz való fényforrások, valamint átfolyó küvetta a küvettatartó (fekete) és pozicionáló (szürke) szerkezetben	337
2.2.5.9. ábra. Analitikai HPLC-oszlop (fekete) és két preparatív (kis nyomású, üvegfalú) kromatográfiás oszlop	337
2.2.6.1. ábra. A FID-detektor vázlata	339
2.2.6.2. ábra. A FID mért jele pozitív	340
2.2.6.3. ábra. Az ECD-detektor vázlata	341
2.2.6.4. ábra. Az ECD működésének elve	341

2.2.6.5. ábra. Az ECD mért jele negatív.....	342
2.2.6.6. ábra. A TID-detektor felépítése.....	342
2.2.8.1. ábra. Ionkromatogram és tömegspektrum.....	345
Az ábra felső részén a tömegspektrum a negyedik csúcsra vonatkozik.....	345
2.3.3.1. ábra. Szilikagél felületének módosítása klórszilánnal. Eltérő felületi struktúrákat kapunk: attól függően, hogy az X ₁ , X ₂ csoport -Cl, -OCH ₃ vagy -CH ₃	353
2.3.8.1. ábra. UV-detektor átfolyásos küvettyája.....	356
3.1.1.1. ábra. Kapilláris elektroforézis berendezés.....	359
3.1.1.2. ábra. A folyadékoszlop mozgása. A zöld nyilak a sebességvektorok.....	360
3.1.2.1. ábra. Micella felépítése. A M és N különböző mérendő semleges molekulák, melyek megkötődnek a micellában.....	361
3.1.3.1. ábra. Pufferrel átítatott géllap (rendszerint vizes pufferral készült poliakrilamid gél).....	361
3.1.4.1. ábra. Kétdimenziós gélelektroforézis.....	362

III. Műszeres analitika – D. Immunanalitika

1.2.1. ábra. Az antigén különböző részeire – epitópjaira – szelektív antitestek.....	368
1.2.2. ábra. Az immunválasz kinetikája.....	368
2.1.1. ábra. Az ellenanyag szerkezete.....	369
2.1.2. ábra. Az antitestek leegyszerűsített szerkezete.....	369
2.4.1. ábra. A „kulcs a zárban” illeszkedés.....	371
2.4.2. ábra. A biotin kapcsolódása az avidin különböző aminosav csoportjaihoz az avidin-biotin komplexben (Hansen D. E., Biomaterials, 28 (2007) 4178–4191).....	372
2.5.1.1. ábra. Kisméretű molekula kovalens kapcsolása hordozó fehérjéhez.....	373
2.5.2.1. ábra. A monoklonális ellenanyagok előállítása.....	374
3.1.1. ábra. Az immunanalitikai módszerek lehetséges csoportosítása.....	376
3.2.1.1. ábra. Az antitestek reakciója oldható antigénnel.....	377
3.2.1.2. ábra. Az antigén-antitest csapadék mennyisége az antigén/antitest arány függvényében.....	378
3.2.1.3. ábra. Vörösvértestek agglutinációja specifikus antitestekkel a vércsoport-meghatározás során.....	378
3.2.1.4. ábra. Különböző antigén tartalmú minták felcseppentése után kialakult precipitációs gyűrűk radiális immundiffúzióval.....	379
3.3.1.1. ábra. A fluoreszcein (A) és a Rhodamine B (B) molekula szerkezete.....	382
3.3.1.2. ábra. Az időfelbontásos fluorimetria elve (a mérés során a ciklusok ismétlődnek egymás után).....	383
3.3.1.3. ábra. A fluoreszcencia polarizációs mérés elve.....	383
3.3.1.4. ábra. A fluoreszcens fény polarizáltságának változása a kisméretű molekula antitesthez való kötődése után.....	384
3.3.2.1. ábra. Az immunometrikus assay menete.....	385
3.3.2.2. ábra. Az immunometrikus assay menete, ha a mérendő anyag antitest.....	385
3.3.3.1. ábra. A kompetitív immunoassay menete.....	386
3.3.5.1. ábra. 96 lyukú mikrotiter tálca.....	388
3.3.5.2. ábra. A szabadon maradt, nem specifikus kötőhelyek blokkolása az antitesttel módosított felületen.....	389
3.3.5.3. ábra. Immunometrikus ELISA elve antitestek mérésénél.....	390
4.1.1. ábra. Az immunometrikus assay kalibrációs függvénye.....	392
4.1.2. ábra. Kompetitív immunoassay kalibrációs függvénye.....	392
4.2.1.1. ábra. Az ELISA Technologies Inc. (Gainesville, FL, USA) ELISA-reagens készlete.....	393
4.2.2.1. ábra. A Siemens cég StreamLAB® – ADVIA Centaur® XP immunoassay mérőrendszere.....	394
4.2.3.1. ábra. A DrugTest Services, Inc. (Montgomery, AL, USA) cég tesztcsíkjája, amely egyszerre 5 féle kábítószer kimutatására alkalmas vizeletből.....	394
4.2.3.2. ábra. Szendvics immunoassay menete tesztcsíkon.....	395
4.2.3.3. ábra. Kompetitív immunoassay tesztesíkon.....	396
4.2.3.4. ábra. Kézi (PDA alapú) tesztcsik leolvasó készülék (Detekt Biomedical, Austin TX, USA, www.idetekt.com).....	396

VIDEÓK

II. Klasszikus analitika – A. Titrimetria

2.1.5.1. videó. Mintaelőkészítés	33
2.1.5.2. videó. Sósav faktorozása	33
3.2.8.1. videó. Kalcium és magnézium meghatározása kelatometriával	57
4.1.4.1. videó: Bromid mérése Volhard módszerével	65
5.3.6.1. videó: Réz(II) jodometriás mérése	77

III. Műszeres analitika – A. Elektroanalitika

2.4.4.1. videó: pH mérés.....	114
2.4.4.2. videó: Fluoridion mérés.....	115
2.4.5.1. videó: Philips test összeszerelése	117
3.1.2.1. videó: Konduktometria.....	123

III. Műszeres analitika – B. Spektroszkópia

2.1.6.1. videó: Induktív csatolású plazma begyűjtása és beállítása	188
2.1.7.1. videó: Pneumatikus porlasztó működése.....	195
2.5.4.1. videó: Dinitrogén-oxid – acetilén láng begyűjtása	226
2.5.4.2. videó: Láng-atomabszorpciós elemzés, mangán meghatározása mészkő mintában.....	228
2.5.5.1. videó: Grafitkemence AAS elemzés, ólom meghatározása.....	230
3.1.4.1. videó. UV-VIS spektrofotometria: vas(III) ionok meghatározása szulfoszalicilsavval	262
3.2.1.1. videó: Kinin meghatározása tonikból fluorimetrián.....	268
3.3.2.1. videó: KBr pasztilla készítése és infravörös spektrum felvétele	276
4.1.1. videó: HS-GC-MS-mérés	284

III. Műszeres analitika – C. Elválasztástechnika

2.1.11.1. videó: Automatikus folyadékminta-injektálás a HPLC-ben.....	326
2.2.5.1. videó: HPLC pumpa	338
2.2.5.2. videó: HPLC – Kézi injektálás	338
2.2.11.1. videó. SPE mintaelőkészítés.....	349

III. Műszeres analitika – D. Immunanalitika

3.3.5.1. videó. α -fetoprotein fehérje meghatározása vérszérumból ELISA módszerrel.....	391
--	-----

TÁBLÁZATOK

II. Klasszikus analitika – A. Titrimetria

2.1. táblázat. A sav-bázis tirtalások során használt mérőoldatok	26
2.1.3.1. táblázat. A titrálási görbe pontjai ha az analát erős bázis, melynek kezdeti koncentrációja $10^{-3} M$	28
2.1.4.1. táblázat. A mennyiségilemzés során elfogadható maximális pH-tartományok	30
2.2.2.1. táblázat. A koncentráció logaritmusa és a pH közötti összefüggés levezetése.....	35
2.2.2.2. táblázat. Az A – közelítő egyeneseinek egyenlete.....	35
2.2.2.3. táblázat. A HA közelítő egyeneseinek egyenlete.....	35
2.2.2.4. táblázat. Kitüntetett pontok a titrálás során (az lgc -pH függvények metszéspontjai).....	36
2.2.3.1. táblázat. A logaritmikus egyensúlyi diagramon ábrázolandó mennyiségek egyértékű gyenge bázis esetén.....	36
2.2.5.1. táblázat. A pufferhatás mechanizmusa	38
2.2.6.1. táblázat. Az átcsapási tartomány levezetése	39
2.3.1.1. táblázat. A szénsav disszociációs állandói	41
2.3.1.2. táblázat. A szénsav titrálásának kiemelt pontjai	41
2.3.2.1. táblázat. A foszforsav disszociációs állandói	42

3.1.2.1. táblázat. Réz(II) akvakomplex reakcióinak összehasonlítása en és ammónia esetében.....	51
3.2.2.1. táblázat. Néhány fémion EDTA-kelátjának stabilitási állandója.....	53
3.2.2.2. táblázat. A fém és a komplexképző formái az oldatban	53
3.2.5.1. táblázat. A fém-, az EDTA- és az indikátor- oldatban lévő formái a titrálás különböző szakaszaiban	55
4.1.1.1. táblázat. Argentometriás titrálás mérőoldatai és vizsgálható analítjai	59
4.1.2.1. táblázat. A diagram egyenleteinek levezetése (a jodid példáján)	60
4.1.2.2. táblázat. Az ezüstion oldatbeli koncentrációjának változása a titrálás során	60
4.1.2.3. táblázat. A jodidion és a bromidion logaritmikus egyensúlyi diagramon ábrázolható egyenletei	61
4.1.3.1. táblázat. A kromátindikátor megfelelő koncentrációja.....	62
5.1.3.1. táblázat. Az $MnO_4 - Mn^{2+}$ -rendszer formálpotenciáljának levezetése.....	70
5.1.3.2. táblázat. A Fe^{2+} permanganometriás meghatározás során a potenciál kiegyenlítés folyamata 50%-os titráltságnál	71
5.1.3.3. táblázat. Egyensúlyi potenciál értékek számítási módja a titrálás különböző fázisaiban. Ahol az 1 és 2 indexek egyike a titrált, másik a a titráló rendszerre vonatkozik.....	72
5.2.1. táblázat. $KMnO_4$ erős oxidálószer, a különböző közegekben másképpen reagál.....	73
5.3.5.1. táblázat. Karl Fischer-víz meghatározás specifikációi	76

II. Klasszikus analitika – B. Gravimetria

1.2.1. táblázat. A klasszikus analitika két ága is a csapadékképzésen alapszik, a módszerek más-más előnyökkel rendelkeznek.....	86
--	----

III. Műszeres analitika – A. Elektroanalitika

2.2.2.1. táblázat. Kielland-féle táblázat. Néhány hidratált ion átmérője és ezekre számolt aktivitási együttható különböző ionerősségű oldatokban	94
2.3.3.1. táblázat. Néhány ion mobilitása	99
2.3.3.2. táblázat. Különböző folyadék folyadék határfelületen kialakult diffúziós potenciál	100
2.4.1.1. táblázat. A potenciometriás indikátor elektródok osztályozása.....	101
2.4.4.1. táblázat. Csapadék alapú ionszelektív elektródok jellemző analitikai tulajdonságai	116
2.4.5.1. táblázat. Néhány szintetikus ionofor szerkezeti képlete	119
2.4.5.2. táblázat. Néhány ionofor alapú ionszelektív elektród potenciometriás szelektivitási tényezője	119
3.1.2.1. táblázat. Különböző koncentrációjú KCl-oldatok fajlagos vezetése	122
3.1.3.1. táblázat. Néhány ion moláris fajlagos vezetése vizes oldatban, 25 °C-on ($\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$). A hidroxidionok és az oxóniumionok vezetése jelentősen nagyobb, mint a többi ioné a prototróp mechanizmusú vezetés miatt	125

III. Műszeres analitika – B. Spektroszkópia

1.1.1.1. táblázat. Hullámhossztartományok és a spektroszkópiai módszerek	133
1.1.3.1. táblázat. Az elektron-, a rezgési és a forgási átmenetek gerjesztéséhez szükséges energiák összehasonlítása	140
1.2.1.1. táblázat. A molekulaszpektroszkópiai módszerek fényforrásai	144
2.1.1.1. táblázat. Az atomspektroszkópiás elemanalitikai módszerekkel meghatározható elemek (vastagon szedve)	167
2.1.3.1. táblázat. A különböző elemanalitikai módszerek jellemző kimutatási határ koncentrációi ...	170
2.1.3.2. táblázat. A különböző elemanalitikai módszerek jellemző kimutatási határ koncentrációi ...	171
2.1.5.1. táblázat. Az atomemissziós elvű mérés folyamatai Jelölések: M = szabadatom, M^* = gerjesztett szabadatom, M^+ = szabadion, M^{+*} = gerjesztett szabadion, az emittált foton hullámhossza $\lambda = k/\Delta E$. Alkalmazások: ívspektrometria, szikraspektrometria, ICP-OES, láng-OES, GD-OES	175
2.1.5.2. táblázat. Az atomabszorpciós elvű mérés folyamatai. Alkalmazás: atomabszorpció: láng-AAS, GF-AAS, Hg-AAS, Hidrid-AAS.....	176
2.1.5.3. táblázat. Az atomfluoreszcenciás elvű mérés folyamatai. Alkalmazás: Hg-AF, Hydride-AF (As, Se).....	178

2.1.6.1. táblázat. Előkevert lamináris lángok jellemző tulajdonságai és az égőfejek adatai	181
2.1.6.2. táblázat. Láng sugárforrás és atomforrás tulajdonságai.....	183
2.1.6.3. táblázat. A nagyfeszültségű szikrakisülés tulajdonságai	185
2.1.6.4. táblázat. Az induktív csatolású plazma tulajdonságai	188
2.1.6.5. táblázat. A sík katódos és üreges katódos glimmlámpa tulajdonságai	189
2.1.6.6. táblázat. Az elektrotermikus atomizáló tulajdonságai.....	191
2.4.1.1. táblázat. Az ICP-OES-módszerrel mérhető elemek	205
2.5.4.1. táblázat. Láng megválasztása AAS-meghatározáshoz	225
2.5.5.1. táblázat. Mátrixmódosító adalékok	235
2.5.5.2. táblázat. A kadmium grafitkemencés meghatározásának programja	236
2.6.1.1. táblázat. Elemek izotópjai, atomtömegük és a természetes izotópok arányai I.....	239
2.6.1.2. táblázat. Elemek izotópjai, atomtömegük és a természetes izotópok arányai II.	240
2.6.1.3. táblázat. A természetes izotópok relatív arányai, izobárok	241
2.6.3.1. táblázat. Kvadrupol ICP-MS-készülékek jellemző paraméterei.....	248
2.6.4.1. táblázat. Az argon plazmában keletkező molekulaionok, a porlasztott víz és a vízben oldott levegő jelenlétében keletkező molekulaionok (tömeg, molekulaion, zavart elem).....	248
2.6.4.2. táblázat. A mátrixkomponensekből keletkező molekulaionok	249
2.6.7.1. táblázat. Kettős fókuszálású HR-ICP-MS-készülékek jellemző paraméterei.....	251
3.1.2.1. táblázat. Spektrális minőségű oldószerek záró hullámhossz értékei, $A = 1$ $T = 0,1$; $l = 1\text{cm}$, vízzel szemben	255
3.3.2.1. táblázat. Infravörös tartományban küvettaablakként használható anyagok alkalmazhatósági tartományai.....	274
3.3.2.2. táblázat. Oldószerek infravörös átteresztési tartományai (l: rétegvastagság).....	275
4.1.2.1. táblázat. Tömegspektrométerek csoportosítása felbontóképesség alapján	285
4.2.3.1. táblázat. A fontosabb ionforrások csoportosítása a vizsgálható anyag szerint	290
4.2.5.1. táblázat. A pont- és a sordetektorok összehasonlítása.....	300