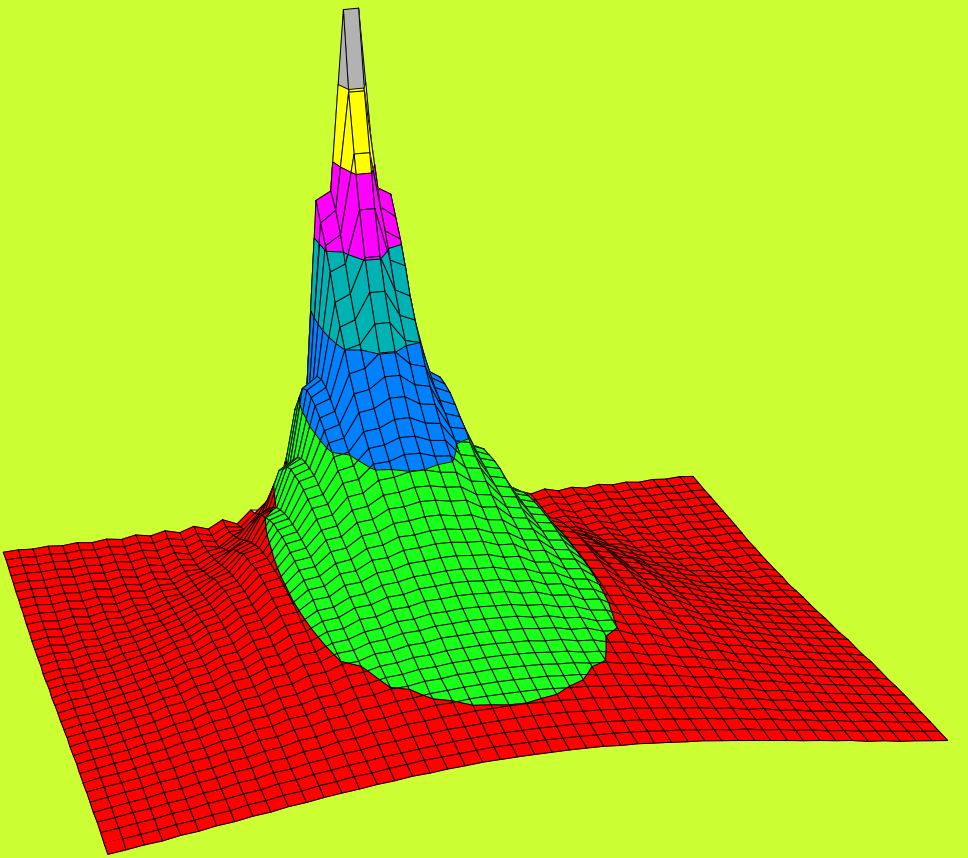
Chimie Analitică şi Instrumentală

Horea Iustin NAŞCU Lorentz JÄNTSCHI



Academic Pres & AcademicDirect

2006

Chimie Analitică şi Instrumentală

Horea Iustin NAŞCU **Lorentz JÄNTSCHI**

Academic Pres & AcademicDirect

2006

Cuprins

Prefață....1

§1. Informația Analitică....3

§2. Proba....25

§3. Metode chimice de analiză - interferențe cu analizele instrumentale....43

§4. Metode electrochimice....59

§5. Metode termice de analiză....87

§6. Metode optice de analiză....95

§7. Spectrometria de absorbție în UV-VIS....101

§8. Spectrometria de absorbție în IR....117

§9. Analiza prin absorbție atomică (AA)....133

§10. Spectrometria de emisie....145

§11. Fluorimetria şi spectrometria de chemiluminescență....159

§12. Nefelometria şi turbidimetria....171

§13. Refractometria şi polarimetria....179

§14. Spectrometria de fluorescență X (XRF)....185

§15. Metode cromatografice - privire de ansamblu....201

§16. Cromatografia de gaze (GC)....217

§17. Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC)....235

§18. Cromatografia ionică (IC)....253

§19. Cromatografia planară (TLC)....261

§20. Analiză spectrală nucleară....271

§21. Prelucrarea datelor rezultate din măsurători....285

§22. Anexe....307

§23. Bibliografie....319

Index....321

Prefață

Lucrarea intitulată *Chimie Analitică şi Instrumentală* abordează majoritatea metodelor şi tehnicilor uzuale de analiză chimică instrumentală. Se adresează studenților Facultății de Știința şi Ingineria Materialelor, îndeosebi studenților secțiilor de Ingineria Mediului în Industrie, Deformări Plastice şi Tratamente Termice şi Știința Materialelor, a căror pregătire presupune cunoaşterea metodelor de analiză chimică şi instrumentală. Lucrarea conține capitole de pregătirea probelor pentru analiză, prelevarea şi dizolvarea probelor, metode chimice şi electrochimice de analiză, metode instrumentale de rezonanță magnetică, lăsând ca metodele în fază solidă [1] ca microscopia şi difractometria să fie detaliate la alte discipline pe care aceştia le frecventează pe parcursul studiilor. Materialul este prezentat într-o manieră modernă, punându-se accent pe tratarea sistemică a conceptelor şi legilor specifice chimiei şi fizicii.

Lucrarea îşi completează conținutul cu numeroase trimiteri la literatura de specialitate.

Cluj-Napoca,
August 2006

Horea Iustin NAŞCU & Lorentz JÄNTSCHI

[1] Solak H. H. et al., *Measurement of strain in Al–Cu interconnect lines with x-ray microdiffraction*, Journal of Applied Physics, 86, 884, 15 July 1999.

Nici un efect a cărui exactitate are o valoare mai slabă de 10 % nu merită a fi cercetat
- Walther Nernst (1864-1941), Chimist fizician german -

Informația Analitică

Generalități

Se vorbește de o *analiză chimică* atunci când activitatea depusă, de o persoană, grup sau organizație, are drept rezultat cel puțin o caracteristică chimică calitativă (adică o proprietate ce indică prezența sau absența unei specii chimice) sau cel puțin o cifră care indică un conținut dintr-o specie sau material dat. Ansamblul de operații și măsurători, plus condițiile experimentale, menite să dea, măcar în parte, compoziția fizico-chimică a unei "probe" din material, produs sau țesut biologic, convenim să-l numim *sistem analitic*.

Supunând un material (numit probă) operațiilor unui sistem analitic, consumând reactivi și materiale auxiliare (de exemplu detergenți), energie și manoperă (lucrul efectiv), se obține răspuns la una din întrebările:

÷ Este prezentă specia (caracteristica) X în probă?

÷ În ce cantitate este prezentă specia X?

A răspunde doar la întrebarea (a) înseamnă a face o *analiză chimică calitativă* iar a răspunde la întrebarea (b) înseamnă a executa o *analiză chimică cantitativă*. A răspunde la ambele întrebări pentru toate speciile cunoscute constituie *analiza completă*.

Dacă se urmărește evoluția unei anumite mărimi analitice, în timp, spunem că se realizează *monitorizare a* acesteia. Deci, numim monitorizarea factorilor poluanți, măsurarea periodică, la intervale predeterminate de timp, a concentrației unuia dintre factorii poluanți ai mediului. Așadar,

O analiză fizico - chimică sau un procedeu de monitorizare se poate defini azi ca un proces de obținere a informației analitice la un preț de cost minim.

Caracteristici ca densitatea materialelor, distribuția lor granulometrică sau puterea calorifică (în cazul unui combustibil de exemplu) nu reprezintă concentrații ale unor specii chimice. Determinarea acestora nu reprezintă analize chimice fiind totuși legate de anumite specii chimice. (De exemplu, substanțele organice au proprietatea de a arde sau doar substanțele cu molecule mari au vâscozitate ridicată). Mărimile în cauză - puterea calorifică sau vâscozitatea - și alte asemenea caracteristici practice fac obiectul așa-numitor *analize tehnice*.

S-a dovedit pe nenumărate cazuri practice că înțelegerea și cunoașterea mai profundă, pe baza datelor obținute prin analizele fizico-chimice, a fenomenelor din practică a dus la perfecționarea continuă a performanțelor organizațiilor (instituțiilor guvernamentale sau

firmelor private), ale produselor, materialelor sau tehnologiilor. De aceea, instrumentelor analitice (sau aparatelor cu care se execută măsurătorile) li s-a asigurat pe plan mondial un loc important în ştiinţă şi tehnică, laboratoare de criminalistică, laboratoare clinice, în industria sau comerţul de mare tonaj şi nu în ultimul rând în domeniul monitorizării poluanţilor mediului. Îmbunătăţirile au făcut instrumentele mai complexe, dar mai simplu de stăpânit, de regulă asistate de un calculator sau un microprocesor. De aceea, pentru studenţi este astăzi mai important să înţeleagă principiul funcţionării metodelor de monitorizare, respectiv analiză, locul acestora în practica curentă, utilitatea lor. Drept consecinţă, în cadrul practicii de laborator se are în vedere acomodarea cu câteva tipuri de analize, mai accesibile şi nu de a învăţa modul de amplasare a butoanelor sau de manipulare concretă a unui anumit instrument, chiar foarte modern, deoarece concepţia acestora se află într-o continuă înnoire. Acomodarea cu un nou instrument durează, pentru o persoană instruită, un interval de ordinul săptămânilor sau cel mult al lunilor. Iar până ce un student ajunge să lucreze efectiv, apare un nou instrument şi mai modern - deci cel pe care l-a învăţat în şcoală s-a perimat moral.

Schematic, un proces prin care se obţin analize chimice are o structură asemănătoare cu un flux tehnologic şi convenim să-l numim de aceea *flux analitic*. Simplificat la maximum acesta este prezentat în fig. 1. Se remarcă faptul că rezultatul unui astfel de flux este o informaţie, adică un rezultat însoţit de o eroare.

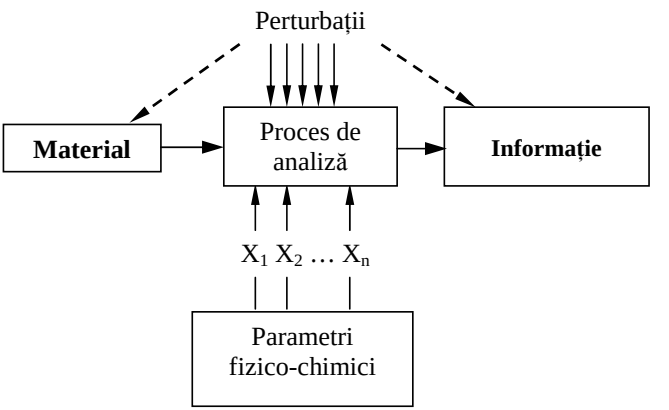


Fig. 1. Schema bloc a unui flux analitic

Analiza calitativă şi cantitativă

În trecut, rezultatele analizelor în medicină erau obținute în mod *calitativ*, de aceea, majoritatea diagnosticelor erau bazate pe simptoame şi/sau examinările cu raze X, deşi era cunoscut faptul că multe boli fiziologice erau însoțite de schimbări chimice în lichidele metabolice [2]. Uneori erau utilizate teste pentru a detecta componenții normali sau anormali în diferite probe recoltate pentru analiză. Aceste teste în procedee prin intermediul cărora a devenit posibilă determinarea *cantitativă* a componenților incluşi [3,4]. Pe măsură ce precizia a crescut şi au fost stabilite proporțiile normale, a devenit clar că rezultatele de laborator au putut fi folosite în scopul precizării diagnosticelor [5].

În prezent, pentru examinarea medicală generală a unui bolnav sau pentru a diagnostica un ansamblu specific de simptoame este nevoie de o serie de analize cantitative ale unor probe recoltate din corpul omenesc. În viitor, astfel de probe se estimează că vor deveni din ce în ce mai numeroase, iar rezultatele analizelor vor putea fi la îndemâna medicului, jucând un rol esențial la stabilirea diagnosticului. În ultimul timp, peste două miliarde de probe sunt executate anual în laboratoarele clinicilor medicale şi acest număr creşte mereu. Majoritatea acestor teste includ determinarea glucozei, ureei, proteinelor, sodiului, calciului, HCO_3^-/H_2CO_3, acidului uric şi pH-ului [6-13].

[2] Joyce Michael A., Fraser Marie E., James Michael N. G., Bridger William A., and Wolodko William T., *ADP-Binding Site of Escherichia coli Succinyl-CoA Synthetase Revealed by X-ray Crystallography*, p. 17-25, Biochemistry, Volume 39, Issue 1, January 11, 2000.

[3] Clausen Tim, Schlegel Anja, Peist Ralf, Schneider Eva, Steegborn Clemens, Chang Yuh-Shin, Haase Andrea, Bourenkov Gleb P., Bartunik Hans D., and Winfried B., *X-ray structure of MalY from Escherichia coli: a pyridoxal 5'-phosphate-dependent enzyme acting as a modulator in mal gene expression*; EMBO J., 19, p. 831-842, 2000.

[4] Ishikawa Kohki, Mihara Yasuhiro, Gondoh Keiko, Suzuki Ei-ichiro, and Asano Yasuhisa, *X-ray structures of a novel acid phosphatase from Escherichia blattae and its complex with the transition-state analog molybdate*; EMBO J., 19, p. 2412-2423, 2000.

[5] Shewchuk Lisa, Hassell Anne, Wisely Bruce, Rocque Warren, Holmes William, Veal James, and Kuyper Lee F., *Binding Mode of the 4-Anilinoquinazoline Class of Protein Kinase Inhibitor: X-ray Crystallographic Studies of 4-Anilinoquinazolines Bound to Cyclin-Dependent Kinase 2 and p38 Kinase*, Journal of Medicinal Chemistry, p. 133-138, Volume 43, Issue 1, January 13, 2000.

[6] Chakraborty Debashis, Chandrasekhar Vadapalli, Bhattacharjee Manish, Krätzner Ralph, Roesky Herbert W., Noltemeyer Mathias, and Schmidt Hans-Georg, *Metal Alkoxides as Versatile Precursors for Group 4 Phosphonates: Synthesis and X-ray Structure of a Novel Organosoluble Zirconium Phosphonate*, Inorganic Chemistry, p. 23-26, Volume 39, Issue 1, January 10, 2000.

[7] Gabelnick Aaron M., Capitano Adam T., Kane Sean M., Gland John L., and Fischer Daniel A., *Propylene Oxidation Mechanisms and Intermediates Using in Situ Soft X-ray Fluorescence Methods on the Pt(III) Surface*, Journal of the American Chemical Society, p. 143-149, Volume 122, Issue 1, January 12, 2000.

[8] Solak H. H. et al., *Measurement of strain in Al–Cu interconnect lines with x-ray microdiffraction*, Journal of Applied Physics, 86, 884, 15 July 1999.

[9] Steger-Hartmann T., Länge R., Schweinfurth H., *Environmental Risk Assessment for the Widely Used Iodinated X-Ray Contrast Agent Iopromide (Ultravist)*, American Society, EESA, p. 274-281, Volume 42, Issue 3.

[10] Chapman Wendy Webber, Fizman Marcelo, Chapman Brian E., Haug Peter J., *A Comparison of Classification Algorithms to Automatically Identify Chest X-Ray Reports That Support Pneumonia*, American Society, JBIN, p. 4-14, Volume 34, Issue 1.

Analiza mediului înconjurător

Ştiința mediului înconjurător se ocupă cu schimbările chimice, fizice şi biologice care au loc în mediul înconjurător prin contaminarea sau modificarea naturii fizice şi biologice a aerului, apei, solului, produselor alimentare şi deşeurilor [14-16]. Analiza acestora precizează măsura în care aceste transformări au fost provocate de oameni, cum şi în ce condiții, aplicarea ştiinței şi tehnologiei poate controla şi ameliora calitatea mediului înconjurător.

În aer, *metodele analitice* au arătat că aproximativ 15% din praful ce se depune şi aproximativ 25% din particulele în suspensie aflate în aer reprezintă poluanți de origine naturală. Procentajul exact variază în funcție de regiunea din care se iau probele [17,18]. Studiul proceselor de ardere a combustibililor ca poluanți ai aerului sunt de asemenea o preocupare foarte importantă. Automobilul a adăugat o chiar nouă categorie de particule poluante [19-21].

Dezvoltarea *metodelor analitice de separare, identificare şi determinare* a furnizat informații prețioase privind prezența în aer a unor particule poluante ca: var, calcar şi praf de

[11] Venezia A. M., Liotta L. F., Deganello G., Schay Z., Guczi L., *Characterization of Pumice-Supported Ag-Pd and Cu-Pd Bimetallic Catalysts by X-Ray Photoelectron Spectroscopy and X-Ray Diffraction*; American Society, JCAT, p. 449-455, Volume 182, Issue 2.

[12] Ohno Youichi, *The Scanning-Tunneling Microscopy, the X-Ray Photoelectron Spectroscopy, the Inner-Shell-Electron Energy-Loss Spectroscopy Studies of M Te2and M3SiTe6(M=Nb and Ta)*, American Society, JSSC, p. 63-73, Volume 142, Issue 1.

[13] Johnson Daniel J. D., Nugent Philip G., Tuddenham Edward G. D., Harlos Karl, Kemball-Cook Geoffrey, *Crystallization and Preliminary X-Ray Analysis of Active Site-Inhibited Human Coagulation Factor VIIa (des-Gla)*, American Society, JSBI, p. 90-93, Volume 125, Issue 1.

[14] Jackson Togwell A., West M. Marcia, and Leppard Gary G., *Accumulation of Heavy Metals by Individually Analyzed Bacterial Cells and Associated Nonliving Material in Polluted Lake Sediments*, Environmental Science & Technology, p. 3795-3801, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[15] Bishop Gary A., Stedman Donald H., Hektner Mary, Ray John D., *An In-Use Snowmobile Emission Survey in Yellowstone National Park*, Environmental Science & Technology, p. 3924-3926, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[16] Fernández Pilar, Vilanova Rosa M., and Grimalt Joan O., *Sediment Fluxes of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in European High Altitude Mountain Lakes*, Environmental Science & Technology, p. 3716-3722, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[17] Taran Y. A., Fischer T. P., Cienfuegos E. and Morales P., *Geochemistry of hydrothermal fluids from an intraplate ocean island: Everman volcano, Socorro Island, Mexico*, Chemical Geology, p. 51-63, Volume 188, Issues 1-2, 30 August 2002.

[18] Aleinikoff John N., Wintsch Robert P., Fanning Mark C. and Dorais Michael J., *U-Pb geochronology of zircon and polygenetic titanite from the Glastonbury Complex, Connecticut, USA: an integrated SEM, EMPA, TIMS, and SHRIMP study*, p. 125-147, Volume 188, Issues 1-2, 30 August 2002.

[19] Shi Ji Ping and Harrison Roy M., *Investigation of Ultrafine Particle Formation during Diesel Exhaust Dilution*, Environmental Science & Technology, p. 3730-3736, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[20] Haefliger Olivier P., Bucheli Thomas D., and Zenobi Renato, *Comment on "Real-Time Characterization of the Organic Composition and Size of Individual Diesel Engine Smoke Particles"*, Environmental Science & Technology, p. 3932-3932, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[21] Reilly Peter T. A., Gieray Rainer A., Whitten William B., and Ramsey J. Michael, *Response to Comment on "Real-Time Characterization of the Organic Composition and Size of Individual Diesel Engine Smoke Particles"*, Environmental Science & Technology, p. 3933-3934, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

ciment, cocs şi hidrocarburi policiclice aromatice provenite din cocsificare [22], oxizi de fier de la topirea minereurilor şi fluoruri de la procesele metalurgice [23-25]. În tabelul 1 sunt prezentați câțiva dintre poluanții organici tipici din apele reziduale industriale:

Tabelul 1 Componenți organici în apele reziduale industriale

Domeniul	Componente reziduale în apele uzate
minerit, uzine de prepararea minereurilor	humus, praf de cărbune, agenți de flotație
turnătorii	cianuri, fenoli, gudroane, praf de cărbune
prelucrarea fontei şi a oțelurilor	agenți de umectare şi lubrifianți, cianuri, inhibitori, hidrocarburi, reziduuri de solvenți
prepararea cărbunilor, cocserii	humus, praf de cărbune, cianuri, rodanine, fenoli, hidrocarburi, piridine bazice
producția de cărbune lemn	acizi graşi, alcooli (în special metanol), fenoli
industria petrolieră	emulsii de uleiuri, acizi naftenici, fenoli, sulfonați
pastă de lemn pentru fabricarea hârtiei	metanol, cimol, furfurol, hidrați de carbon solubili, acizi lignosulfonici
Viscoză şi celuloză	xantogenați, semiceluloze alcaline
industria hârtiei	acizi rezinici, polizaharide, fibre celulozice
industria textilă	agenți de degresare şi umectare, agenți de nivelare, apreturi, agenți de încleiere, acizi graşi, acid nitrolotriacetic (trilon), coloranți
spălătorii	detergenți, celuloză carboximetilică, enzime, agenți de înălbire, coloranți, murdării, proteine, sânge, cacao, cafea, etc.
industria pielăriei şi tanaților	produşi de degradare a proteinelor, săpunuri, agenți de tanare, săpun de calciu emulsionat, păr
rafinării de zahăr	zahăr, acizi vegetali, betaină, pectină
fabrici de amidon	compuşi solubili în apă pe bază de proteine, pectine, hidrați de carbon
fabrici de produse lactate	proteine, lactoză, acid lactic, emulsii de grăsimi, agenți de spălare şi clătire
fabrici de săpun şi grăsimi	glicerină, acizi graşi, emulsii de grăsimi
fabrici de conserve	componenți vegetali solubili
fabrici de bere	componenți vegetali solubili, reziduuri de bere, agenți de clătire
fabrici de produse fermentate	acizi graşi şi aminoacizi, alcooli, hidrați de carbon
abatoare	sânge, componenți din carne solubili în apă şi componenți emulsionați

[22] Swackhamer Deborah L., Schottler Shawn, and Pearson Roger F., *Air-Water Exchange and Mass Balance of Toxaphene in the Great Lakes*, Environmental Science & Technology, p. 3864-3872, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[23] Wehner B., Bond T. C., Birmili W., Heintzenberg J., Wiedensohler A., and Charlson R. J., *Climate-Relevant Particulate Emission Characteristics of a Coal Fired Heating Plant*, Environmental Science & Technology, p. 3881-3886, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[24] Emmrich Monika; *Kinetics of the Alkaline Hydrolysis of 2,4,6-Trinitrotoluene in Aqueous Solution and Highly Contaminated Soils*, Environmental Science & Technology, p. 3802-3805, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[25] Paulson Anthony J., Balistrieri Laurie, *Modeling Removal of Cd, Cu, Pb, and Zn in Acidic Groundwater during Neutralization by Ambient Surface Waters and Groundwaters*, Environmental Science & Technology, p. 3850-3856, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

Au mai fost puse în evidență asfalturi, solvenți, monomeri sintetici, cauciucuri butilice și negru de fum. Alți poluanți sunt: pulberea de cenușă de la termocentralele electrice care utilizează cărbune sau particule de zgură rezultate din diferite procese industriale [26,27].

Acestei liste complexe de poluanți i se pot adăuga poluanți gazoși ai aerului și particulele datorate unei poluări locale sau accidentale.

Apa este un sistem la fel de complex ca și aerul atunci când este analizată pentru determinarea componenților poluanți. Ca și în studiul aerului, *chimia analitică* a jucat un rol important în studiul poluării apei.

Operația de măsurare este fundamentală în analiză. O măsurătoare simplă poate implica proprietăți ca: masă, intensitate de curent, tensiune, volum sau timp [28-32]. Alte proprietăți măsurate în vederea unor analize chimice sunt: absorbția sau emisia de energie [33-35] rotația optică [36], indicele de refracție [37], constanta de echilibru [38] constanta

---

[26] Bond T. C., Bussemer M., Wehner B., Keller S., Charlson R. J., and Heintzenberg J., *Light Absorption by Primary Particle Emissions from a Lignite Burning Plant*, Environmental Science & Technology, p. 3887-3891, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[27] Gallego-Juárez Juan A., Riera-Franco De Sarabia Enrique, Rodríguez-Corral German, Hoffmann Thomas L., Gálvez-Moraleda Juan C., Rodríguez-Maroto Jesus J., Gómez-Moreno Francisco J., Bahillo-Ruiz Alberto, Martín-Espigares Manuel, Acha Miguel, *Application of Acoustic Agglomeration to Reduce Fine Particle Emissions from Coal Combustion Plants*, Environmental Science & Technology, p. 3843-3849, Volume 33, Issue 21, November 1, 1999.

[28] Martin Todd M., Gupta Ram B., and Roberts Christopher B., *Measurements and Modeling of Cloud Point Behavior for Poly(propylene glycol) in Ethane and in Ethane + Cosolvent Mixtures at High Pressure*, Industrial & Engineering Chemistry Research, p. 185-194, Volume 39, Issue 1, January 4, 2000.

[29] Mussari Lelia, Postigo Miguel, Lafuente Carlos, Royo Félix M., and Urieta José S., *Viscosity Measurements for the Binary Mixtures of 1,2-Dichloroethane or 1,2-Dibromoethane with Isomeric Butanols*, Journal of Chemical & Engineering Data, p. 86-91, Volume 45, Issue 1, January 13, 2000.

[30] Dunstan Dave E., Stokes Jason, *Diffusing Probe Measurements of Polystyrene Latex Particles in Polyelectrolyte Solutions: Deviations from Stokes-Einstein Behavior*, Macromolecules, p. 193-198, Volume 33, Issue 1, January 11, 2000.

[31] Devireddy Ramachandra V., Barratt Paul R., Storey Kenneth B., Bischof John C., *Liver Freezing Response of the Freeze-Tolerant Wood Frog, Rana sylvatica, in the Presence and Absence of Glucose. I. Experimental Measurements*, American Society, CRYO, p. 310-326, Volume 38, Issue 4.

[32] Lau Ka-Sing, Ngai Sze-Man, *Multifractal Measures and a Weak Separation Condition*, American Society, AIMA, p. 45-96, Volume 141, Issue 1.

[33] Roncin Jean-Yves, Launay Françoise, Bredohl Harald, Dubois Iwan, *The Vacuum Ultraviolet Absorption Bands of the Pink Afterglow Spectrum of Molecular Nitrogen Revisited at High Resolution*, American Society, JMSP, p. 243-249, Volume 194, Issue 2.

[34] Meng Q., Daniels-Race T., Luo Z., McNeil L. E., *The polarization sensitivity of optical absorption in tensile strained GaAs/InAlAs double quantum wells*, American Society, SPMI, p. 583-590, Volume 25, Issue 4.

[35] Baldo M.A. et al., *Very high-efficiency green organic light-emitting devices based on electrophosphorescence*, Applied Physics Letters, 75, 4, July 5, 1999.

[36] Peddle Derek R., Hall Forrest G. and LeDrew Ellsworth F., *Spectral Mixture Analysis and Geometric-Optical Reflectance Modeling of Boreal Forest Biophysical Structure*, *Remote Sensing of Environment*, p. 288-297, Volume 67, Issue 3, March, 1999.

[37] Kendrick Brent S., Kerwin Bruce A., Chang Byeong S. and Philo John S., *Online Size-Exclusion High-Performance Liquid Chromatography Light Scattering and Differential Refractometry Methods to Determine Degree of Polymer Conjugation to Proteins and Protein¯Protein or Protein¯Ligand Association States*, p. 136-146, Analytical Biochemistry, Volume 299, Issue 2, 15 December, 2001.

vitezei de reacție [39,40] energia de activare [41] sau căldura de reacție [42,43]. Oricât de simple sau complexe ar fi aceste măsurători, siguranța, utilitatea, precizia, interpretarea și realizarea lor depind de analist, care trebuie să fie preocupat nu numai de efectuarea analizei, ci și de cum, de ce și unde se utilizează în final rezultatele obținute. Analistul are obligația de a efectua determinări bazate pe procedee sigure, reproductibile și verificate.

[38] Ortiz T. M., Meyer B. A., and Razani A., *Empirical Correlation of Equilibrium Separation Factors in the Pd-H2/D2 System with Temperature and Composition*, Journal of Chemical & Engineering Data, p. 120-123, Volume 45, Issue 1, January 13, 2000.

[39] Dillingham Mark S., Wigley Dale B., and Webb Martin R., *Demonstration of Unidirectional Single-Stranded DNA Translocation by PcrA Helicase, Measurement of Step Size and Translocation Speed*, Biochemistry, p. 205-212, Volume 39, Issue 1, January 11, 2000.

[40] Laarhoven Lucas J. J. and Mulder Peter, *α-C-H Bond Strengths in Tetralin and THF: Application of Competition Experiments in Photoacoustic Calorimetry*, The Journal of Physical Chemistry B, p. 73-77, Volume 101, Issue 1, January 2, 1997.

[41] Mitchell T. E., Hirth J. P. and Misra A., *Apparent activation energy and stress exponent in materials with a high Peierls stress*, p. 1087-1093, Acta Materialia, Volume 50, Issue 5, 14 March, 2002.

[42] Cedeño Fidel Oscar, Prieto María M., and Xiberta Jorge, *Measurements and Estimate of Heat Capacity for Some Pure Fatty Acids and Their Binary and Ternary Mixtures*, Journal of Chemical & Engineering Data, p. 64-69, Volume 45, Issue 1, January 13, 2000.

[43] Dai Wenbin, Kojima Kazuo, and Ochi Kenji, *Measurement and Correlation of Excess Molar Enthalpies of Carbon Dioxide + 2-Butanol and 2-Propanol Systems at the Temperatures 303.15 K and 308.15 K and at Pressures from 7.0 to 8.5 MPa*, Journal of Chemical & Engineering Data, p. 6-10, Volume 45, Issue 1, January 13, 2000.

Procedeul analitic şi alegerea unei metode de analiză

Prima etapă în realizarea unui procedeu analitic o constituie *stabilirea obiectivului* care se urmărește. Numai identificând clar scopul propus, se poate imagina o *cale logică* care să conducă la rezolvarea corectă a problemei [44,45]. Se pot pune mai multe întrebări. De exemplu: Ce fel de probă este: organică sau anorganică? Ce informație se caută? Care este precizia cerută? Este o probă mare sau una mică? Componenții de interes sunt majoritari în probă sau sunt constituenții minori? Ce obstacole există? Câte probe trebuie să fie analizate? Există echipament şi personal corespunzător?

O importantă sarcină care-i revine analistului este de a alege o metodă analitică care să conducă la *cea mai bună rezolvare a scopului urmărit* [46]. Există cazuri în care libertatea de alegere este limitată; analizele privind apa sau produsele farmaceutice trebuie să fie efectuate prin procedee aprobate de standardele legale [47].

Odată ce este definit obiectivul analizei, trebuie ca la alegerea metodei de analiză să se precizeze o serie de factori cum sunt: domeniul de concentrație, precizia şi sensibilitatea cerute, selectivitatea şi rapiditatea. În funcție de cantitatea aproximativă de substanță care trebuie determinată dintr-o probă, metodele analitice se clasifică ca în tabelul 2:

Tabelul 2. Clasificarea metodelor analitice în funcție de cantitatea de determinat

Metoda	Mărimea aproximativă
macro	100 mg
Semimicro	10 mg
Micro	1 mg
Ultramicro	1 µg
Submicro	10^{-2}µg

În conformitate cu această clasificare, *metodele chimice* se pretează cel mai bine la determinarea macrocantităților, iar *metodele instrumentale* pentru microcantități.

[44] Sârbu Costel, Jäntschi Lorentz, *Validarea şi Evaluarea Statistică a Metodelor Analitice prin Studii Comparative. I. Validarea Metodelor Analitice folosind Analiza de Regresie*, Revista de Chimie, Bucureşti, p. 19-24, 49(1), 1998.

[45] Naşcu Horea, Jäntschi Lorentz, Hodişan Teodor, Cimpoiu Claudia, Câmpan Gabriela, *Some Applications of Statistics in Analytical Chemistry*, Reviews in Analytical Chemistry (Freud Publishing House), p. 409-456, XVIII(6), 1999.

[46] Baker G. L., Gollub J. P., Blackburn J. A., *Inverting chaos: Extracting system parameters from experimental data*, Chaos, p. 528, Vol. 6, No. 4, 1999.

[47] Hatton Angela D. and Gibb Stuart W., *A Technique for the Determination of Trimethylamine-N-oxide in Natural Waters and Biological Media*, Analytical Chemistry, p. 4886-4891, Volume 71, Issue 21, November 1, 1999.

Noțiuni fundamentale

Procedeele de monitorizare, pentru a putea fi comparate cu alte metode de analiză, în vederea înlocuirii sau perfecționării acestora, sunt individualizate prin caracteristici proprii, dintre care amintim pe cele mai frecvent utilizate: *exactitatea, precizia, selectivitatea, sensibilitatea, limita de detecție, durata, costul.*

În afară de acestea mai există şi alte caracteristici, necesare doar specialiştilor, care creează noi metode de analiză: analiştii, o profesie care se dobândeşte doar prin pasiunea executării de analize performante, zi de zi, o perioadă de timp de ordinul anilor, indiferent de meseria de bază a celui ce o practică: chimist, fizician, medic, inginer, biolog sau geolog.

Exactitatea

Este măsura încrederii acordată măsurătorii efectuate cu un mijloc de măsură. Aceasta se referă la sistemul analitic, în ansamblu, indiferent de locul şi timpul măsurătorii. Exactitate a se măsoară folosind un material (substanță) zis *etalon* - în care încrederea este deplină. Diferența dintre valoarea *adevărată*, adică aceea recunoscută unanim, şi cea măsurată o denumim *eroare*. Este esențial ca etalonul să fie recunoscut de toate laboratoarele interesate. Exactitatea este măsurată şi de corelația ce există între un standard şi o probă, la măsurători repetate. În acelaşi timp, exactitatea estimează posibilitatea de apariție a erorilor sistematice. O comparație intuitivă dintre exactitatea unei analize şi trasul la țintă cu o puşcă scoate în evidență sensul exactității (vezi fig. 2).

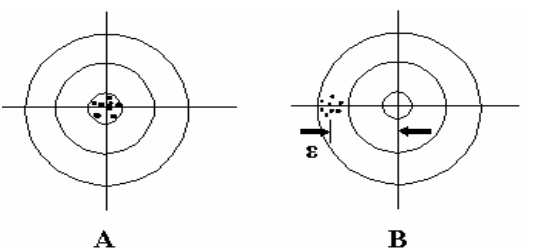


Fig. 2. Analogie între trasul la țintă cu o armă şi o metodă de analiză chimică: A - o metodă exactă; B - o metodă precisă dar inexactă

Evaluarea exactității se face cu ajutorul valorii medii ($\overline{x}$) a mai multor determinări (i) individuale, x_i:

$$\overline{x} = \sum x_i$$

şi se exprimă în procente ale abaterii acesteia față de valoarea adevărată, A; urmează:

Eroarea metodei (%) = 100 - Exactitate (%); Exactitate (%) = $\overline{x} \cdot 100/A$

Precizia

Gruparea analizelor individuale în jurul valorii medii se evaluează prin precizie. Schița de mai jos ne permite să caracterizăm două trageri la țintă, una precisă şi alta imprecisă (fig. 3). Noțiunea de precizie este sinonimă cu aceea de reproductibilitate şi se exprimă tot în procente utilizând *abaterea standard a mediei de selecție* s_x (sau RSD [48]):

$$\text{Precizia (\%)} = s_x \cdot 100 / \bar{x}$$

Prin definiție:

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

unde x_i reprezintă valoarea numerică a unei analize, $\bar{x}$ - valoarea mediei tuturor analizelor, n fiind numărul de determinări şi reprezintă *abaterea standard a mediei de selecție*, o măsură matematică a împrăştierii rezultatelor în jurul mediei.

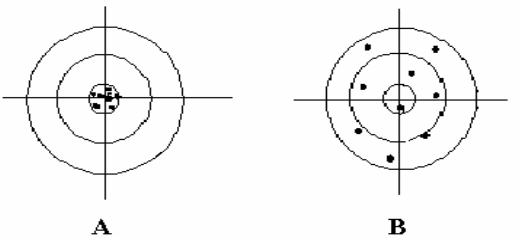


Fig. 3. Ilustrarea preciziei: A-tir precis analog cu o analiză chimică precisă, B-tir imprecis analog cu o analiză chimică imprecisă

Selectivitatea

Selectivitatea sau *specificitatea* este măsura în care rezultatul unei analize este influențat de prezența unui alt component. De exemplu, pentru identificarea ionului Ni^{2+} avem la dispoziție un reactiv numit dimetilglioximă, ce nu reacționează cu nici un alt ion. Spunem că aceasta este *o reacție specifică* (şi deci metoda este *selectivă*). Cu alte cuvinte analiza nu este influențată de concentrațiile altor ioni aflați în aceeaşi soluție. Selectivitatea indică, prin valoarea sa, *interferența* altor ioni (sau, mai general, a altor specii chimice). Să notăm cu y un semnal dependent de concentrație şi fie n numărul de componenți de analizat, fiecare contribuind la cele n semnale diferite: y_1, y_2, ... , y_n, printr-un sistem de ecuații liniare de forma:

$$y_1 = \gamma_{11}C_1 + \gamma_{12}C_2 + ... + \gamma_{1n}C_n$$
$$y_2 = \gamma_{21}C_1 + \gamma_{22}C_2 + ... + \gamma_{2n}C_n$$

[48] RSD este prescurtarea din l. engl. a termenului *relative standard deviation* folosit în literatura de specialitate internațională.

...

$y_n = \gamma_{n1}C_1 + \gamma_{n2}C_2 + ... + \gamma_{nn}C_n$

Spunem despre un proces de determinare analitică, care determină n componenți de concentrații C_1, C_2, ..., C_n, prin măsurarea valorilor semnalelor y_1, y_2, ..., y_n, că este total selectiv dacă şi numai dacă elementele diagonalei principale a matricei coeficienților supusă transformărilor elementare, γ_{ii} (i = 1..n), sunt diferite de zero.

Sensibilitatea

Dacă nu există interferențe şi singurul component de analizat are analiza bazată pe funcția y = f(c), numită şi *funcție de răspuns*, exemplificată în fig. 4 pentru o specie oarecare, atunci panta acestei curbe indică chiar sensibilitatea, S:

$$S = \frac{\partial y}{\partial c}$$

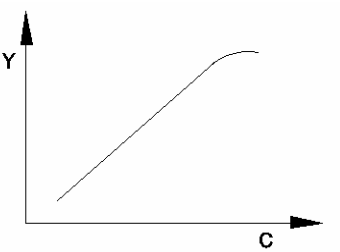


Fig. 4. Funcție de răspuns

Aceasta depinde, în general, de totalitatea concentrațiilor tuturor speciilor chimice ce însoțesc specia de determinat notate c_j, care este denumită şi *matricea probei*.

Dacă proba conține mai mulți componenți care toți prezintă interes şi notăm cu i pe unul dintre aceştia, avem sensibilitatea S_i:

$$S_i = \left(\frac{\partial y}{\partial c_j}\right)_{c_i} \quad j \neq i$$

La funcțiile liniare, de forma y = a + bx, cea mai frecvent folosită mărime, în calitate de *sensibilitate a analizei*, este chiar coeficientul b - panta curbei - adică: S = b.

În cazul existenței mai multor funcții liniare măsurarea sensibilității, H_n este chiar determinantul corespunzător coeficienților funcțiilor de răspuns (vezi sistemul de ecuații liniare precedent):

$H_n = \det(\gamma)$, unde γ matricea coeficienților γ_{ij}

Pentru analiza chimică instrumentală trebuie găsite astfel de condiții experimentale sau de prelucrare a datelor, ca *elementele de pe diagonala principală să fie maxime iar restul*

egale cu zero sau cât mai mici. Sistemul are în acest caz o sensibilitate şi selectivitate mare. Cu creşterea concentraţiei, în general, curba de etalonare se aplatizează şi sensibilitatea scade, de aceea, foarte mult. *Din acest motiv componentul major se preferă, de regulă, să fie determinat prin diferenţă după ce s-au analizat toate componentele minore.*

Limita de detecţie

Limita de detecţie (C_d), reprezintă conţinutul minim, sigur detectabil. În general, se poate reda sub forma funcţiei: $C_d = f(\hat{y}_0 + k_d \cdot s_{fond})$. Valoarea coeficientului de discriminare k_d se alege din considerente practice una dintre valorile: k_d = 2...6, $\hat{y}_0$ reprezentând media zgomotului de fond iar s_{fond} simbolizând abaterea standard a semnalului de fond. În practică, din considerente statistice, cea mai obişnuită modalitate de exprimare este aceea cu k_d = 3 (fig. 5).

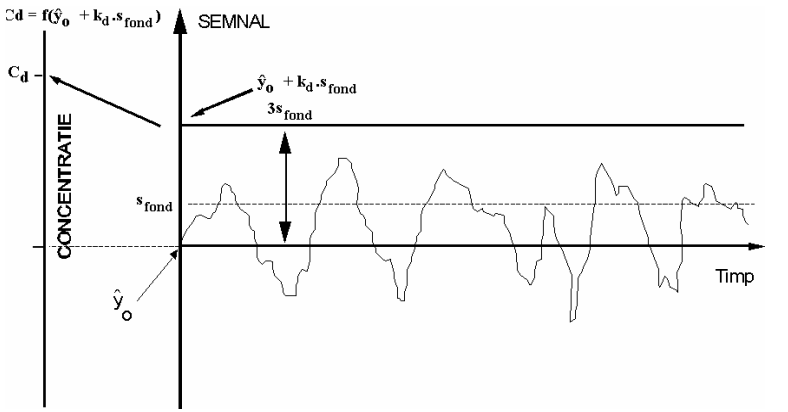


Fig. 5. Reprezentarea semnalului de fond şi a calculului limitei de detecţie. Valoarea coeficientului de discriminare preferat este 3

Rapiditatea

Se măsoară în unităţi de timp per analiză iar *costul* la preţul unei analize incluzând: materialele, manopera, chiria laboratorului, amortizarea aparatelor (uzura mijloacelor fixe), costurile reactivilor folosiţi, energia şi apa.

Evidența analizelor

Activitatea de laborator este reflectată în *registrele de analize*. Acestea sunt registre, cu pagini numerotate, în care se trec toate rezultatele analizelor efectuate şi semnătura executantului sau a celui ce răspunde de analiza respectivă. În mod obligatoriu se înregistrează data şi ora primirii probei, numele celui ce a efectuat analiza, rezultatul, data şi ora eliberării *buletinului de analiză*. *Caietele de laborator*, folosite de fiecare co-participant la execuția analizei chimice, conțin, pe zile: măsurători, cântăriri, calcule etc. se numerotează de asemenea, pagină cu pagină, şi se păstrează în arhivă. Acelaşi sistem este valabil în cazul monitorizărilor cu deosebirea ca datele nu se mai păstrează doar pe hârtie ci şi în memorii ale calculatoarelor, în aşa numitele *baze de date*, din care informațiile nu se pot şterge niciodată.
Pentru a se putea verifica rezultatele analizelor, în caz de litigii ulterioare referitoare la calitatea probelor ce fac obiectul analizei, fiecare laborator are obligația de a lua o astfel de cantitate de proba de analizat încât pentru analiză să nu se folosească decât cel mult un sfert din cantitatea luată. De asemenea, are obligația să păstreze restul probei un anumit timp (6 luni) astfel ca proba să nu-şi modifice compoziția în acest timp. Probele este bine să fie păstrate în vase speciale, închise şi care se deschid în vederea unei noi analize numai în prezența tuturor părților interesate. În cazul unor probe prelevate din mediu, concentrațiile coborâte fac practic imposibil acest deziderat. *Buletinul de analiză* este actul prin care este certificată compoziția sau calitatea oricărui material, primit pentru analiză de către un laborator. Comunicarea telefonică grăbeşte adesea transmiterea informației dar nu poate constitui probă într-un eventual litigiu.

Standarde analitice

În vederea obținerii unor rezultate ale analizelor care să poată fi valabile pentru mai multe unități (firme, instituții sau unități economice) pe teritoriul unei țări sau al unui grup de țări, de regulă analizele se fac prin metode verificate şi adaptate la probe de o anumită categorie. De exemplu, cuprul din oțel sau cuprul din părul uman se aseamănă în principiu dar rețetele diferă din mai multe puncte de vedere. În prezent în țările avansate există organizații care studiază şi verifică metodele de analiză pentru cele mai diverse grupuri materiale. Echivalentul acestora la noi este Institutul Român de Standardizare. Cele mai potrivite metode sunt recomandate a fi utilizate în toate laboratoarele de acelaşi tip din țara respectivă. Aceste metode se denumesc *metode standardizate* şi sunt publicate, existând chiar în unele biblioteci. Acestea prevăd toate operațiunile, modul de determinare a fiecărui component - inclusiv formula de calcul (fără a se da explicații privind principiile) sau instrumentul necesar. Există însă şi standarde care se ocupă cu aspecte comune mai multor metode de analiză cum ar fi luarea probei medii pentru diferite materiale, de exemplu probe de sol, de aer de apă, nisip, grâu sau minereu.

În cazul în care nu s-au elaborat încă rețete standard, fiind vorba de un produs nou, analizele se fac pe baza unei *norme interne* stabilite de comun acord între producătorul şi beneficiarul respectivei analize. Colecția de metode unanim acceptate formează un sistem de standarde de analiză chimică şi acestea sunt denumite diferit în funcție de țară. De exemplu, ASTM în SUA, DIN în Germania iar în ultimul timp, pentru Comunitatea Europeană, standardele ISO.

Tipuri de metode analitice

Metodele analitice de pot clasifica pe tipul şi starea fizică a probei, scopul analizei, mărimea probei (tabelul 2) sau după tipul metodei analitice. După acest din urmă criteriu, metodele analitice se împart în metode chimice şi metode instrumentale. Metodele chimice se bazează pe diferite operații chimice folosind sticlăria uzuală de laborator formată din aparate simple. În general în aceste metode se măsoară masa sau volumul. Metodele instrumentale implică utilizarea unui echipament complex, bazat pe principii electronice, optice sau termice. În aceste cazuri, se măsoară diferite *proprietăți corelate cu compoziția probei*. Cele mai bune rezultate se obțin prin cuplarea tehnicilor chimice cu cele instrumentale [49]. Fiecare categorie de metode prezintă avantaje şi dezavantaje, şi alegerea metodei sau complexului de metode trebuie să se facă minimizând interferența dezavantajelor şi maximizând influența avantajelor asupra cerințelor concrete ale analizei de efectuat.

Avantajele metodelor instrumentale: determinarea este foarte rapidă; pot fi utilizate probe mici; pot fi cercetare probe complexe; prezintă o sensibilitate ridicată; dau un grad mare de siguranță rezultatelor măsurătorilor.

Avantajele metodelor chimice: procedeele sunt simple şi precise; metodele se bazează în general pe măsurători absolute; echipamentul necesar nu este scump. Din prezentarea avantajelor, nu trebuie să se tragă concluzia că metodele instrumentale le-au înlocuit pe cele chimice. În practică, metodele chimice constituie parte integrantă dintr-o metodă instrumentală. Astfel, *în orice analiză există etape ca*: prelevarea probelor; dizolvarea; schimbări în starea de oxidare; îndepărtarea excesului de reactiv; ajustarea pH-ului; adăugarea de agenți de complexare; precipitarea; concentrarea; îndepărtarea impurităților. Unele dintre aceste metode implică utilizarea *metodelor de separare*.

Dezavantajele metodelor chimice: uneori lipseşte specificitatea; realizarea unei analize ia de obicei un timp destul de lung; precizia scade odată cu micşorarea cantităților de probă (măsurători absolute); sunt lipsite de flexibilitate; sunt poluante pentru mediul înconjurător.

Dezavantajele metodelor instrumentale: este necesară o etalonare inițială sau continuă a aparatului; sensibilitatea şi precizia depind de aparatura sau metoda chimică de etalonare; precizia finală se află adesea în domeniul ±5%; costul inițial şi pentru întreținerea echipamentului este ridicat; intervalul de concentrație este limitat (măsurători relative); în mod obişnuit, necesită spațiu destul de mare; implică un personal cu o pregătire specială.

---

[49] Bailey Nigel J. C., Cooper Paul, Hadfield Stephen T., Lenz Eva M., Lindon John C., Nicholson Jeremy K., Stanley Paul D., Wilson Ian D., Wright Brian, and Taylor Stephen D., *Application of Directly Coupled HPLC-NMR-MS/MS to the Identification of Metabolites of 5-Trifluoromethylpyridone (2-Hydroxy-5-trifluoromethylpyridine) in Hydroponically Grown Plants*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, p. 42-46, Volume 48, Issue 1, January 17, 2000.

Analiza cantitativă

Analiza cantitativă este bazată pe măsurarea unei proprietăți care este corelată direct sau indirect, cu cantitatea de constituent ce trebuie determinată dintr-o probă. În mod ideal, nici un constituent, în afară de cel căutat, nu ar trebui să contribuie la măsurătoarea efectuată. Din nefericire, o astfel se selectivitate este rareori întâlnită.

Pentru a proceda la o analiză cantitativă, trebuie urmate o serie de etape:

1. Obținerea unei probe semnificative prin metode statistice;
2. Prepararea probei;
3. Stabilirea procedeului analitic în funcție de:

÷ Metode: (chimice; fizice cu sau fără schimbări în substanță);

÷ Condiții: (determinate de metoda de analiză aleasă; determinate de substanța cercetată);

÷ Cerințe: (rapiditate, exactitate, costuri; posibilitatea de amortizare);

4. Evaluarea şi interpretarea rezultatelor.

Practic, după natura analizei, există 7 tipuri de metode de analiză: (1) gravimetrice; (2) volumetrice; (3) optice; (4) electrice; (5) de separare; (6) termice; (7) de rezonanță. În general, (1) și (2) sunt metode chimice, iar (3-7) sunt instrumentale (bazate pe relații între o proprietate caracteristică şi compoziția probei). Adeseori, în analiză se cuplează două sau mai multe dintre aceste procedee de bază. O altă clasificare a metodelor de analiză se poate face după implicarea componenților în reacții chimice, în metode stoechiometrice şi metode nestoechiometrice. Tabelul 3 conține unele metode tipice de măsurare și categoria tip stoechiometrică:

Tabelul 3. Metode analitice stoechiometrice (S) şi nestoechiometrice (N)

1. GRAVIMETRICE - izolarea unui precipitat care poate fi cântărit 1.1 Agenți de precipitare anorganici (S) 1.2 Agenți de precipitare organici (S) 1.3 Electrodepunere (S)
2. VOLUMETRICE - reacția substanței de analizat cu o soluție standard 2.1 Titrări acid-bază (S) 2.2 Titrări de precipitare (S) 2.3 Titrări complexonometrice (S) 2.4 Titrări de oxidare - reducere (S)
3. OPTICE 3.1 ABSORBȚIE DE ENERGIE - atenuarea radiației de către o probă absorbantă 3.1.1 Colorimetrie (N) 3.1.2 Spectrofotometrie în ultraviolet (N) 3.1.3 Spectrofotometrie în infraroșu (N) 3.1.4 Măsurarea reflectanței luminii reflectate de probă (N) 3.2 EMISIE DE ENERGIE - aplicarea unei energii suplimentare (căldură, lumină) şi observarea emisiei fotonice 3.2.1 Emisia în arc - excitarea în arc electric (N)

3.2.2 Flamfotometria - excitarea în flacără (N) 3.2.3 Fluorescența - excitarea prin fotoni, observarea fotonilor emiși (N) 3.2.4 Fosforescența - excitarea prin fotoni și observarea emisiei întârziate de fotoni (N) 3.2.5 Chemiluminescența - observarea fotonilor eliberați dintr-o reacție chimică (N)
4. ANALIZA GAZELOR 4.1 Volumetria - măsurarea volumului unui gaz (S) 4.2 Manometria - măsurarea presiunii unui gaz (S)
5. ELECTRICE - măsurarea parametrilor electrici în soluții 5.1 Potențiometria - măsurarea potențialului unei celule electrochimice (N) 5.2 Conductometria - măsurarea rezistenței unei soluții (N) 5.3 Coulombmetria - măsurarea cantității de electricitate necesare pentru a provoca o reacție (S) 5.4 Polarografia - caracteristica potențial-intensitate a unei soluții ionice în procese redox (N)
6. DE REZONANȚĂ - interacțiunea radiației electromagnetice cu nucleele în câmp magnetic 6.1 Rezonanța magnetică nucleară (N)
7. TERMICE - măsurători funcție de temperatură 7.1 Măsurători de proprietăți fizice în funcție de temperatură (N)
8. ALTE METODE - specifice 8.1 Fluorescența de raze X - excitarea probei cu raze X și observarea razelor X emise (N) 8.2 Spectrometria de masă - măsurarea numărului de ioni de mase date (N) 8.3 Refractometria - măsurarea indicelui de refracție al probei (N) 8.4 Polarimetria - măsurarea rotației luminii într-o soluție (N) 8.5 Dispersia optică rotativă măsurarea rotației luminii în probă în funcție de lungimea de undă (N) 8.6 Fotometria prin difuzia luminii - măsurarea cantității de lumină dispersată de către o suspensie (N) 8.7 Analize de radioactivitate - formarea de materiale radioactive și numărarea particulelor (N) 8.8 Absorbția radiațiilor – absorbția radiațiilor emise de o sursă de către proba reținută pe un suport (S)

Într-un *procedeu analitic stoechiometric*, constituentul ce trebuie determinat intră în reacție cu altă substanță, conform unei ecuații bine definite între reactanți (R_i) și produșii de reacție (P_j):

$$\Sigma_i R_i \rightarrow \Sigma_j P_j$$

Măsurând cantitatea oricăruia dintre produșii rezultați (P_j) sau cantitatea unui reactiv utilizat (R_i, $i \geq 2$) și aplicând *legea proporțiilor definite* se poate apoi calcula cantitatea constituentului de determinat (R_1).

Într-un *procedeu analitic nestoechiometric* nu pot fi scrise reacții exacte, bine definite; în majoritatea cazurilor metodele nestoechiometrice se bazează pe măsurarea proprietăților fizice care se schimbă proporțional cu concentrația constituentului de determinat.

Metode de separare

Adesea este necesar să se îndepărteze impuritățile din probă înainte ca aceasta să fie supusă analizei. Procedeele folosite pentru acest lucru sunt cuprinse sub titlul general de metode de separare. Metodele de separare se bazează pe fenomene fizice sau chimice şi nu totdeauna sunt asociate doar cu separarea impurităților [50].

Separarea componenților dintr-un amestec poate avea o importanță atât calitativă cât şi cantitativă, separarea poate fi utilă pentru purificare, pentru concentrarea unuia dintre componenți sau a tuturor. O clasificare a metodelor de separare este dată în tabelul 4.

Sub aspect analitic, procedeele de separare sunt deosebit de importante, deoarece metodele de analiză sunt selective şi conduc la rezultate corecte numai dacă în prealabil s-au izolat constituenții probei [51]. Metodele de separare aplicate sistemelor chimice au ca scop separarea sau împărțirea unui amestec eterogen sau omogen în unitățile sale individuale, în grupuri, componente sau chiar în elemente [52].

Tabelul 4. Metode de separare

Metoda	Bazele metodei
Precipitare	solubilități diferite
Distilare	volatilități diferite
Sublimare	presiuni de vapori diferite
Extracție	solubilitatea diferită între două faze
Cristalizare	proprietăți de solubilitate funcție de temperatură
Rafinare zonală	cristalizare la temperatură ridicată
Flotație	diferențe de densitate între substanțe şi lichid
Ultrafiltrare	mărimea substanței *vs* dispozitivul de filtrare
Dializă	osmoza - trecerea selectivă a unui sistem printr-o membrană
Electrodepunere	electroliza folosind electrozi inerți
Cromatografie	÷
÷ de absorbție pe coloană	distribuția solutului între o fază solidă şi una lichidă pe coloană
÷ de repartiție pe coloană	distribuția solutului între două lichide pe coloană
÷ pe strat subțire	adsorbția sau repartiția pe un strat subțire poros plan
÷ pe hârtie	repartiția pe o suprafață de hârtie plană
÷ lichide, înaltă presiune	cromatografia de lichide pe o coloană sub o presiune ridicată
÷ prin schimb ionic	schimbul de ioni
÷ cu site moleculare	mărimea solutului
÷ penetrația prin gel	mărimea solutului
÷ de gaze	distribuția solutului între un gaz şi o fază lichidă sau solidă

[50] Utille J.-P., Boutron P., *Separation of Racemic from meso-2,3-Butanediol*, Cryo, p. 398-402, 38(4), 1999.
[51] Oleinikova M., Muraviev D., Valiente M., *Aqua-Impregnated Resins. 2. Separation of Polyvalent Metal Ions on Iminodiacetic and Polyacrylic Resins Using Bis(2-ethylhexyl) Phosphoric and Bis(2-ethylhexyl) Dithiophosphoric Acids as Organic Eluents*, Anal. Chem., p. 4866-4873, Volume 71, Issue 21, 1999.
[52] Ishii Y., Ryan A.J., *Processing of Poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene ether) with Epoxy Resin. 1. Reaction-Induced Phase Separation*, Macromolecules, p. 158-166, 33(1), 2000.

÷ electroforeza zonală	separarea pe o suprafață plană în prezența unui câmp electric

Standarde, reactivi şi soluții etalon

Este foarte importantă stabilirea de standarde sau de referințe pentru orice fel de măsurătoare. Astfel, standardul de bază în cazul măsurării unor proprietăți fizice este o unitate de măsură foarte precis definită. În chimie, *standardul de bază poate fi o substanță a cărei puritate a fost verificată*. Deoarece standardele de bază nu sunt întotdeauna accesibile, se recurge la comparații cu materialul de referință. Acestea sunt numite *standarde secundare*.

Este de menționat că cuvântul standard se mai foloseşte în chimie şi în alt context. Astfel, sunt stabilite *standarde* pentru conținutul de poluanți admis în aer, de impurități în alimente sau medicamente sau pentru reziduurile de pesticide în produsele agricole. În acest caz, pentru un analist se pune problema de a determina dacă un produs a fost fabricat astfel încât să se încadreze într-un anumit tip de standard.

Standardele chimice au o contribuție majoră în succesul unei metode analitice. Alegerea materialului de referință pentru etalonare dă calitatea măsurătorilor. Trebuie ales încât să îndeplinească următoarele condiții: să fie accesibil şi la un preț convenabil; să aibă o puritate cunoscută de cel puțin 99%; să fie stabil în solventul utilizat; să fie stabil şi nehigroscopic; să participe la reacții în proporții stoechiometrice; să posede o masă moleculară mare. Numărul de substanțe ce satisfac toate aceste cerințe este limitat. Totuși, pentru majoritatea metodelor analitice este necesar un etalon chimic - standard de bază. De exemplu, la *determinarea titrimetrică (volumetrică) a unei substanțe este necesar un volum măsurat de reactiv de concentrație cunoscută*, cu ajutorul căruia se produce o reacție chimică până când reactivul ajunge într-o proporție stoechiometrică (punct de echivalență sau stoechiometric) cu substanța cercetată.

O substanță care îndeplineşte condițiile amintite anterior poate fi considerată un *standard primar*. Cu ajutorul acesteia se pot apoi prepara *standarde secundare*, care nu prezintă aceleaşi calități ca şi standardul primar, însă realizează cerințele minimale pentru determinările pe care le efectuăm cu ajutorul lor.

În principiu, pentru o analiză cantitativă sau calitativă instrumentală trebuie utilizați reactivi de puritate analitică (pro analysis sau pentru analiză, prescurtat p.a.). Astfel de reactivi sunt furnizați de regulă de întreprinderi specializate (de exemplu Merck în Germania sau "Chimopar" Bucureşti în România).

Odată cu coborârea limitei de detecție la diversele tipuri de analiză instrumentală necesarul unor reactivi purificați a crescut încât astăzi există reactivi spectral puri (for spectroscopy în l. engleză) sau reactivi cromatografici (for chromatography), mai puri decât cei p.a.

În unele cazuri nu avem reactivi suficient de puri. De aceea se pleacă de la o altă substanță pură, de exemplu un metal pur (purificat electrolitic, sau prin topire zonară) care se dizolvă într-un acid de înaltă puritate. Nu trebuie uitat că eticheta de pe sticlă nu garantează, în mod infailibil, puritatea. Motivele sunt diverse: unele impurități nu au fost determinate de fabricant, sau reactivul a devenit impur, după primire, fie prin deschiderea sticlei (borcanului) într-un mediu poluat (de exemplu cu praf de un anumit metal) sau prin turnarea înapoi în container a unei cantități de reactiv de către o persoană neavizată.

Dacă reactivul procurat este sigur de calitate corespunzătoare "regulile de aur" privind lucrul cu reactivi sunt următoarele:

1. nu se ține sticla deschisă decât timpul minim necesar;
2. nici o foarte mică cantitate de reactiv nu se întoarce înapoi în sticlă după ce a fost scoasă afară o cantitate ceva mai mare de reactiv;
3. reactivii lichizi sau soluțiile se vor turna prealabil din sticlă într-un pahar şi niciodată nu se va introduce o pipetă direct în sticlă. O atenție deosebită trebuie acordată dopurilor de la sticlele de reactivi pentru a nu fi impurificate în timpul transvazării [53] reactivilor.

[53] A *transvaza* - a trece prin turnare (manual sau instrumental) un lichid dintr-un vas în altul.

Întrebări de verificare

1. Poate o metodă imprecisă să fie exactă?
2. Care sunt principalele caracteristici ale unei metode de analiză instrumentale?
3. Ce "produs" final rezultă dintr-un flux analitic?
4. Valoarea adevărată a compoziției probei etalon este necesară în cazul determinării exactității sau în cel al determinării preciziei?
5. Ce denumire poartă materialul supus unui proces analitic?
6. Care este „produsul” unui flux analitic?
7. Prin ce caracteristică a metodelor de analiză îmbunătățesc metodele de separare calitatea rezultatelor analizelor?
8. Presupunând că funcția de răspuns este liniară, ce parametru al dreptei este reprezentativ pentru sensibilitate?
9. Ce mărime intervine în calculul preciziei în afara valorii medii a determinării analitice respective?
10. Cum de poate defini limita de detecție a unei metode?
11. Ce denumire poartă metoda de analiză care determină 1 μg probă?
12. Indicați trei tipuri de metode de analiză chimică stoechiometrice!
13. Ce caracteristică a unei metode de analiză indică panta funcției de răspuns?
14. Dacă media zgomotului de fond este ridicată, ce mărime caracteristică a unei metode de analiză este afectată?
15. Cum se procedează cu excesul, rămas după analiză, din proba primită de către un laborator?
16. Ce reprezintă o metodă de analiză standardizată?
17. Ce înseamnă reactiv p.a.?
18. Se poate face o analiză exactă având la dispoziție doar un standard primar? Dar daca avem doar o substanță standard secundar fara un standard primar?
19. Ce deosebire există între caietul de laborator şi registrul de analize de laborator?

Începutul este partea cea mai importantă a unui lucru
Platon (cca. 428-347 B.C.), în Republica, Cartea II

Proba

De cele mai multe ori, luarea unei probe, la o analiză făcută în laboratoarele didactice, constă într-o cântărire sau o măsurare a unui volum de probă cu care se începe lucrul în laborator. Trebuie să avem în vedere că practica din realitate este diferită. Şi anume, aceasta *poate constitui etapa cu care începe analiza în laborator* dar originea eşantionului adus la laborator este alta - provenind din materialul de analizat. Unul din subcapitole va aborda şi acest aspect. Pe de altă parte, etapa cu care se începe analiza chimică din laboratorul de analiză instrumentală rămâne cântărirea. Deci, începem acest capitol cu atenționarea că:

de calitatea şi modul de întreținere a balanței analitice - principalul instrument de cântărire - depinde exactitatea tuturor analizelor din acel laborator

Prelevarea probelor

Toate procedeele de *analiză cantitativă* includ câteva operațiuni de laborator comune. Acestea sunt: *luarea probelor, uscarea, cântărirea şi dizolvarea* [54]. Dizolvarea este singura operațiune care nu este întotdeauna necesară, deoarece există unele *metode instrumentale* prin care măsurarea se face direct pe probă [55]. Orice analist experimentat *execută* aceste operațiuni acordându-le o atenție deosebită, deoarece este ştiut că o pregătire adecvată pentru măsurare este la fel de importantă ca şi măsurarea în sine. O *probă* trebuie să fie reprezentativă pentru toți componenții luându-se în considerare şi proporțiile în care aceste componente sunt incluse în materialul de analizat. Dacă materialul este omogen, prelevarea probei nu constituie o problemă. Pentru materialele eterogene se impun măsuri de precauție speciale pentru a obține o probă reprezentativă. O probă de mărime potrivită pentru laborator se poate alege întâmplător sau se poate selecționa după un plan elaborat în mod statistic, care în mod teoretic, oferă fiecărui component din probă o *şansă egală* de a fi decelat şi analizat.

Există instrucțiuni standardizate pentru orice material în ceea ce privește luarea probei. Principiul general, care va duce la o regulă comună, este acela că proba medie trebuie să se compună dintr-un număr cât mai mare de porțiuni mici, luate din diferite locuri ale materialului de analizat, alese în ordine întâmplătoare. De asemenea, pe cât posibil, extragerea probelor e bine să se facă mecanizat sau automatizat pentru a se elimina factorul subiectiv.

[54] Ungureşan Mihaela, Jäntschi Lorentz, *Desulfuration of Gases. Chemical Methods*, Oradea University Annals, Chemistry Fascicle, p. 19-24, VIII, 2001, ISSN 1224-7626.
[55] Ungureşan Mihaela, Jäntschi Lorentz, Dicu Delia, *Desulfuration of Gases. Electrochemical Methods*, Oradea University Annals, Chemistry Fascicle, p. 25-30, VIII, 2001, ISSN 1224-7626.

Dar, aplicând aceste precauții se obțin de regulă cantități prea mari de material de analizat format din bucăți câteodată neomogene şi diferite, în ceea ce priveşte compoziția, de la un punct la altul. Această probă *reprezentativă*, este sfărâmată şi mărunțită nişte scule specifice de exemplu concasoare sau mori şi redusă treptat până la cantitatea trimisă la laborator, care poate fi între 25 g şi 1 kg. Aceasta, înainte de cântărire, se macină fin (≤50μ). În prepararea probelor se folosesc materiale dure şi totodată pure ca agat, cuarț, porțelan, platină, Teflon® sau polietilenă. Acestea se spală în mod special. De exemplu, sticla se spală cu detergent apoi se umectează cu amestec cromic, se clăteşte cu apă apoi cu apă distilată şi în final, se usucă fără ştergere.

Există 3 metode de bază pentru colectarea *probelor gazoase*. Acestea sunt: prin expansiune într-un container din care proba poate fi ulterior evacuată; prin absorbție pe un suport şi prin înlocuire cu un lichid. În toate cazurile, trebuie să se cunoască volumele vaselor de colectare, temperatura şi presiunea. În mod obişnuit, vasele de colectare sunt confecționate din sticlă şi trebuie prevăzute cu un orificiu de intrare şi unul de ieşire ce pot fi închise şi deschise, în mod convenabil.

Pentru a elimina contaminarea probelor, se recomandă inițial spălarea containerului cu gazul din care se prelevează proba. Concepția dispozitivului de prelevare a probei trebuie să permită ca acest procedeu să se execute cu uşurință. Aerul este un amestec complex de diferite gaze. Studiul compoziției aerului este o problemă frecventă în studiul mediului [56-59]. Compoziția sa reală este dependentă de mediul înconjurător şi de locul de unde se ia proba. În prezent, datorită poluării, multe eforturi sunt îndreptate pentru studiul şi supravegherea calității aerului. Există mai multe modalități pentru prelevarea probelor de aer. O metodă preferată în cazul analizelor de mediu este metoda absorbției prezentată în fig. 1.

Pentru determinarea unor compuşi aflați în concentrații foarte coborâte în *probe gazoase*, de exemplu compuşi moleculari în stare de vapori dintr-o atmosferă poluată, se obişnuieşte captarea acestora pe un suport solid, prin trecerea unui volum cunoscut din eşantion peste o coloană (tubuşor) care conține suportul respectiv. Un astfel de exemplu este prezentat în fig. 2 unde tubul (4x100mm), inițial închis la cele două capete (la flacără),

[56] Mendes Adélio M. M., Costa Carlos A. V., and Rodrigues Alírio E., *Analysis of Nonisobaric Steps in Nonlinear Bicomponent Pressure Swing Adsorption Systems. Application to Air Separation*, Industrial & Engineering Chemistry Research, p. 138-145, Volume 39, Issue 1, January 4, 2000.

[57] Slawig T., *Domain optimization of a multi-element airfoil using automatic differentiation*, p. 225-237, Advances in Engineering Software, Volume 32, Issue 3, 15 December, 2000.

[58] Davidson Gregg R., *Use of SF6 to label drilling air in unsaturated, fractured rock studies: risk of over-purging*, p. 1361-1370, Applied Geochemistry, Volume 17, Issue 10, October, 2002.

[59] Liao Chung-Min, Chen Jein-Wen, Chen Jui-Sheng and Liang Huang-Min, A transfer function model to describe odor causing VOCs transport in a ventilated airspace with mixing/adsorption heterogeneity, p. 1071-1087, Applied Mathematical Modelling, Volume 25, Issue 12, December, 2001.

conține mai mulți adsorbenți, fiecare destinat unui anumit compus. Varietatea suporturilor folosite este limitată doar de imaginația analistului.

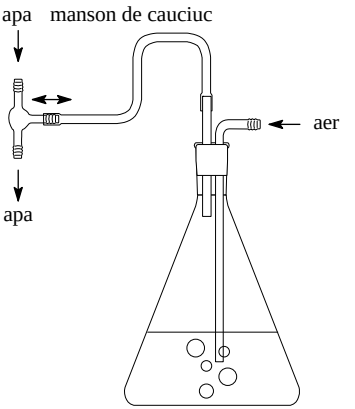


Fig. 1. Instalație pentru probe de aer

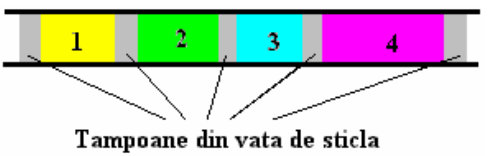


Fig. 2. Modul de realizare al tubuşoarelor folosite la reținerea analiților din gaze pe suporturi solide, adsorbenți sau prin absorbție pe lichide fixate pe suport solid

De exemplu acestea pot fi diferite sortimente de cărbune poros (activ), grafit, polimeri organici poroşi având fixate prin legături chimice diferite funcțiuni precum şi adsorbenți îmbibați cu soluții de reactivi sau chiar conținând reactivi solizi. O pompă cu debit controlat asigură aspirarea unui anumit volum. După închiderea cu capace etanşe tubuşorul din sticlă sau material plastic este transportat în laborator. Aici, compuşii adsorbiți sunt recuperați, fie prin extracție într-un solvent (de preferat CS_2) fie prin desorbție termică, simultan cu *spălarea*, realizată cu un gaz inert. Marele avantaj al ultimei metode este acela că proba nu se diluează înainte de introducerea în analizor (gaz cromatograf). Totul se realizează prin utilizarea unui mic cuptoraş, încălzit rapid la circa 300°C, timp de câteva secunde. O alternativă la soluția tehnică de mai sus s-a materializat în existența unor tubuşoare pentru retenție, de dimensiuni mici, care pot fi în întregime introduse într-un *injector cromatografic modificat*. În aceste cazuri, recuperarea compuşilor se consideră satisfăcătoare dacă se face în proporție de 60%. Acest tip de prelevare a probelor este specific igienei industriale şi controlului poluării mediului.

Ca exemplu reuşit de prelevare a probelor pe suporturi solide putem da cazul determinării aldehidei formice din aer. Aceasta provine din degradarea răşinilor

ureoformaldehidice. În contact cu reactivul 2-hidroximetilpiperidină aceasta conduce printr-o reacție chimică la oxazolidine, combinații stabile care pot fi ulterior desorbite și analizate.

Luarea probelor din atmosferă este o problemă dificilă. Diferiți factori cum sunt vântul, temperatura sau ploaia sunt variabili și greu de controlat.

Luarea *probelor din lichide* pure sau omogene este directă și în mod uzual, se poate folosi orice dispozitiv sau vas care nu distruge puritatea sau omogenitatea. Prelevarea probelor din amestecurile lichide eterogene ridică unele probleme mai dificile. Procedeul întrebuințat se selecționează în funcție de amestecul supus analizei, dacă este o *suspensie, o emulsie, o mixtură de faze lichide nemiscibile* sau *un lichid conținând reziduuri solide*. Când amestecul lichid este instabil (de exemplu o emulsie), dacă conține componenți volatili, sau dacă conține gaze dizolvate, intervin dificultăți suplimentare [60]. În general, părțile *alicote* [61] sunt prelevate la întâmplare de la diferite adâncimi și din toate locurile din proba de lichid. Acestea pot fi analizate în mod separat sau pot fi combinate pentru a da o probă cu compoziție, în mod static, *reprezentativă* pentru proba originală. Amestecurile de lichide nemiscibile sunt destul de frecvente în tehnică [62]. Cele mai cunoscute sunt amestecurile de ulei + apă și benzine + apă. Deversările de produse petroliere accidentale sunt evenimente foarte neplăcute pentru ecosisteme. Pentru aceste amestecuri separarea fazelor, măsurarea raportului de amestecare și apoi analiza cantitativă a fracțiilor separate sunt metode uzuale în analiza instrumentală a lichidelor.

Extracția lichid - lichid prin coloane cu suport solid este una dintre cele mai moderne metode de prelevare a probelor lichide, de exemplu în cazul analizei unor poluanți ai apelor. Această metodă, apărută relativ recent (uneori denumită extracția lichid-solid), a revoluționat o procedură de laborator mai veche, încă utilizată și azi - extracția cu solvenți pentru separarea analiților din probele lichide. Este o metodă de separare dar totodată de concentrare a analitului. Este o tehnică folosită în cazul concentrațiilor mici (cum este și cazul poluanților) și constă în trecerea unui volum cunoscut de probă, lichidă sau în soluție, peste un "cartuș de extracție" umplut cu adsorbent solid cu o compoziție care să favorizeze reținerea unor anumite clase de compuși. Situația întâlnită cel mai frecvent este prezentată în fig. 3 și parcurge 4 etape.

---

[60] Wassenaar L.I. and Koehler G., *An On-Line Technique for the Determination of the 18O and 17O of Gaseous and Dissolved Oxygen*, Anal.Chem., p. 4965-4968, 71(21), 1999.

[61] *alicotă* – adjectiv feminin, termen matematic, din francezul aliquote; *parte alicotă* = parte a unui tot, conținută în el de un anumit număr întreg de ori; *alicuante* – adjectiv, feminin, termen matematic, din francezul *aliquante*; *parte alicuantă* = parte care nu intră de un număr exact de ori într-un tot;

[62] Lu H., Matsumoto T., Gratzl M., *Fine Chemical Manipulations of Microscopic Liquid Samples. 2. Consuming and Nonconsuming Schemes*, Anal.Chem., p. 4896-4902, 71(21), 1999.

Se folosesc coloane în formă de seringă (denumite cartuşe de extracţie) cu dimensiunile de 5-10 cm care se supun, într-o primă, etapă condiționării adsorbentului prin tratare cu reactivi potriviți (et.I fig. 3). Apoi, în etapa II se toarnă prin cartuş soluția cu proba de analizat care, infiltrându-se lent prin coloană, permite reținerea (extracția) selectivă a compusului sau compușilor de analizat (de exemplu pesticidele dintr-o apă). Urmează spălarea compușilor nedoriți, rămaşi nereținuți în interstițiile coloanei (III). În final (etapa IV) are loc dizolvarea şi totodată concentrarea într-un volum mic a analitului prin turnarea peste coloană, în mai multe porțiuni mici, a unui solvent care dizolvă substanțele de analizat reținute, realizând totodată şi o concentrare a acestora.

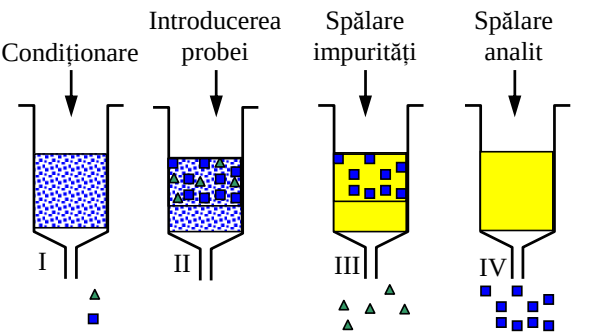


Fig. 3. Principiul retenției selective a analitului pe coloane prin extracție; se observă fixarea selectivă a analitului, în timp ce impuritățile nu sunt reținute

În locul *extracției cromatografice* în ultimul timp se utilizează *discuri de extracție* (0.5mm înălțime, 25-90mm diametru). Dacă sunt selective, permit extragerea analitului din volume apreciabile de soluție. Discurile sunt confecționate din granule de silice (SiO_2 poros), pe care se găsesc legate chimic diferite faze staționare inspirate din LC şi care sunt înglobate într-o rețea poroasă din Teflon sau din fibre de sticlă. Acestea se introduc, în vederea extracției, în pâlnii Büchner pentru vid. Recuperarea analitului se face în urma unui ciclu similar celui anterior. Apoi proba se injectează în instrumentul de analiză folosit.

În prelevarea *probelor de solide*, dacă solidul este omogen, orice porțiune poate fi selectată ca fiind reprezentativă. Pentru un solid eterogen, trebuie pregătit un plan care să permită prelevarea statistică a tuturor secțiunilor solidului. Luarea probelor se poate face manual sau în mod mecanic, când materialul de analizat are o masă mare. Nu este întotdeauna posibil să se obțină, în mod statistic, o probă reprezentativă. De exemplu, este evident o sarcină dificilă să se determine compoziția suprafeței lunii. *Pornind de la o cantitate limitată de roci şi praf, luarea probelor s-a bazat parțial pe mărimea particulelor şi parțial pe starea lor fizică.*

Mărimea particulei probei este un parametru important la prelevarea probelor dintr-o substanță solidă, deoarece compoziția particulelor de diferite mărimi poate varia. În general, transformarea unei probe mari într-o probă de mărime convenabilă pentru analiză cere mai întâi, *reducerea probei la o mărime de particule uniformă* şi în al doilea rând, *reducerea masei probei*. O mărime de particule uniformă se obține trecând proba prin concasoare, pulverizatoare, mori sau mojare. Poate fi utilizată de asemenea şi sitarea pentru granule, sau pilirea pentru metale. Oricare ar fi procedeul ales, este necesar să se asigure ca prin aceste operațiuni să nu se contamineze proba.

În cazul solidelor granulare (inclusiv în cazul monitorizării poluanților solului), probele se extrag din mai multe puncte, cu așa-numitele *sonde* (fig. 4), de la adâncimi diferite sau, în lipsa lor, cu lopeți conform schițelor din fig. 5.

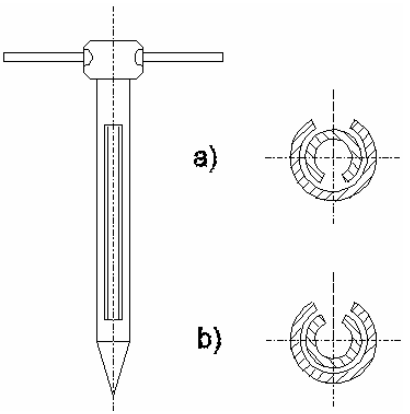


Fig. 4. Sondă pentru luarea probei; poziție închisă, (b) poziție deschisă

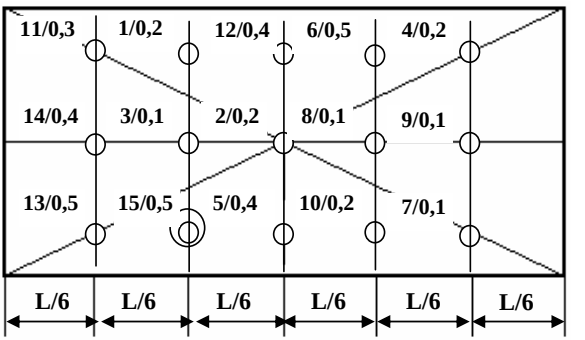


Fig. 5. Luarea probelor din grămezi, camioane sau vagoane. Cifra de sus indică ordinea iar cea de jos, adâncimea de la care se ia proba

Reducerea prin metoda cuartării, ilustrată în fig. 6, şi 7, se realizează prin următoarele etape: (1) Se macină proba la o granulație prevăzută, (2). Se amestecă materialul obținut în grămadă, (3). Se turteşte cu ajutorul lopeții până formează un strat în formă de disc, de grosime egală (fig. 6). (4). Acesta se împarte în patru sferturi egale şi se reține numai două din sferturile opuse (v. fig. 7) de exemplu se reține sferturile I şi III, restul - II şi IV - se aruncă. Dacă proba este mai mare se repetă operațiile 1 ... 4 atât cât este necesar. Aceste operații se pot realiza şi mecanizat cu utilaje specializate.

Când standardul prevede, se mai execută o mărunțire finală a probei şi în laborator, păstrându-se totuşi o proba martor şi în unitatea care trimite eşantionul, un timp suficient: 3 sau 6 luni.

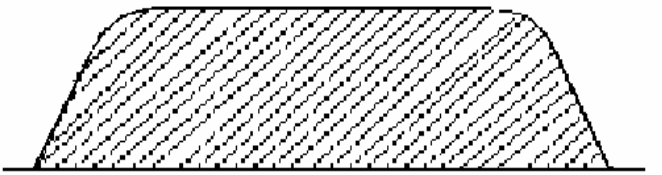


Fig. 6. Aspectul grămezii de material granulat sau pulbere, din profil, înainte de a se aplica reducerea prin metoda cuartării

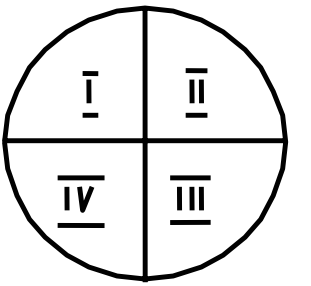


Fig. 7. Ilustrarea metodei cuartării (vezi textul)

În fig. 8 sunt prezentate 3 dispozitive de tăiere pentru reducerea probei.

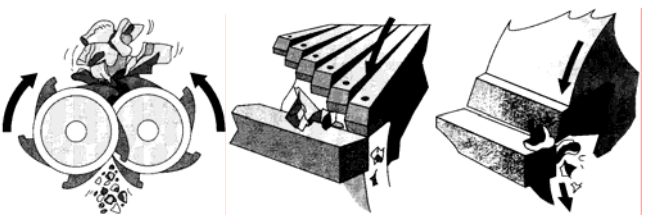


Fig. 8. Dispozitive de tăiere pentru reducere a probei - zdrobitor, tăietor transversal şi paralel

Uscarea şi dizolvarea

După obținerea probei corespunzătoare se hotărăşte dacă analiza se va efectua pe proba ca atare sau după ce aceasta a fost uscată. Majoritatea probelor solide conțin cantități variabile de apă datorate faptului că proba este higroscopică sau pentru că apa este inițial adsorbită la suprafață şi se pierde necontrolat. Operația de uscare se face în mod uzual prin încălzire într-o etuvă, într-un cuptor cu muflă sau prin ardere la becuri Bunsen sau Meeker (fig. 9).

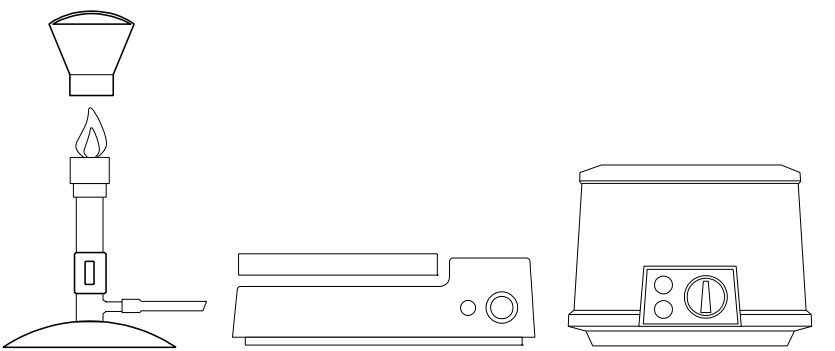


Fig. 9. Bec de gaz, plită electrică şi cuptor de uscare

Întrucât pentru uscare se foloseşte căldura, este posibil ca în tentativa de uscare a probei aceasta să se descompună sau să piardă substanţele volatile. Ambele cazuri trebuie luate în considerare la efectuarea unei analize corecte. După ce proba a fost uscată, urmează de obicei cântărirea. Pentru aceasta se folosesc balanţe. Balanţele sunt instrumente de măsurare a masei; sunt de mai multe tipuri: balanţe tehnice (cu precizie de ordinul gramelor, folosite pentru cântăriri de substanţe a căror masă depăşeşte 1 Kg), balanţe farmaceutice (cu precizie de la 1 la 10 mg, folosite pentru cântăriri de substanţe a căror masă depăşeşte 100g), balanţe analitice (cu precizie de 0,1 mg, folosite pentru cântăriri de substanţe a căror masă este sub 100g), balanţe electronice (permit înregistrarea variaţiilor de masă în timp) [63].

După cântărirea probei, următoarea etapă este dizolvarea. Dacă proba este solubilă în apă, nu există probleme de dizolvare, deşi câteodată proba poate să hidrolizeze lent în apă, formând compuşi insolubili. Materialele organice sunt în mod obişnuit dizolvate de solvenţi organici sau în mixturi de solvenţi organici şi apă. Există însă o varietate de procedee chimice şi instrumentale care necesită un solvent de compoziţie anumită. În alte cazuri nu mei este necesară etapa dizolvării. Astfel, dacă proba este excitată în arc sau în scânteie şi este analizată energia radiantă rezultată atunci se poate utiliza în mod direct o probă lichidă sau solidă. Dacă se cere să fie analizată partea organică a amestecului din proba prelevată, atunci trebuie utilizaţi pentru dizolvare solvenţi organici şi tehnologii specifice chimiei organice. Pentru probele anorganice, cazul cel mai frecvent în industrie, proba se dizolvă într-un acid sau se topeşte cu un fondant. Dacă se utilizează acizi, este important să se cunoască proprietăţile chimice ale probei, dacă este nevoie de acid oxidant sau neoxidant, dacă procedeul aplicat trebuie să respecte restricţii legate de tipul anionului din soluţie, şi dacă după dizolvare trebuie să se elimine sau nu excesul de acid.

Situaţii specifice: H_2SO_4 nu trebuie utilizat pentru probe ce conţin Ba ($BaSO_4$ pp. alb insolubil); HCl nu trebuie utilizat pentru probe cu Ag sau săruri de Ag (AgCl pp. insolubil).

Selecţionarea anumiţilor acizi pentru a putea fi utilizaţi la dizolvare se realizează în funcţie de proprietăţile lor chimice, dacă sunt oxidanţi sau neoxidanţi. Acizii neoxidanţi folosiţi sunt HCl, H_2SO_4 diluat şi $HClO_4$ diluat. Acizii oxidanţi sunt: HNO_3, H_2SO_4 fierbinte concentrat şi $HClO_4$ fierbinte concentrat.

Dizolvarea metalelor prin intermediul acizilor neoxidanţi se bazează pe capacitatea metalelor de a înlocui hidrogenul. În acest caz, se ţine seama de *seria activităţii chimice a metalelor*: Li, Ca, K, Ba, Na, Mg, Al, Zn, Fe, Cd, Co, Ni, Sn, Pb, H, Cu, Ag, Hg, Au.

[63] Jäntschi Lorentz, Chira Ioan Ovidiu, *Caiet de Lucrări practice de Chimia şi Biochimia Poluanţilor*, U.T. Press, Cluj-Napoca, 113 p., 2000, ISBN 973-9471-46-3.

Cele mai puternice condiții de oxidare se obțin la utilizarea $HClO_4$ fierbinte și concentrat, care dizolvă toate metalele obișnuite. Acesta este periculos datorită exploziilor pe care le poate provoca. Adeseori se obțin avantaje din utilizarea unor combinații de acizi. Cel mai familiar este apa regală (1:3 HNO_3:HCl) în care HNO_3 este un oxidant, iar HCl are proprietăți de complexare și furnizează aciditate puternică. De reținut:

solubilitatea multor ioni metalici este menținută numai în prezența agenților de complexare

Acidul fluorhidric, deși un acid slab și neoxidant, descompune rapid probele de silicați, cu formare de SiF_4. El are o acțiune superioară de complexare comparativ cu acidul clorhidric prin anionul său complexant, F^-. Amestecul HNO_3 cu $HClO_4$ are o acțiune de dizolvare mult mai energică, dar necesită o manipulare mult mai atentă deoarece poate produce explozii puternice.

Tratarea cu fondanți (tabelul 1) este mai eficace decât tratarea cu acizi din două motive. Primul, datorat temperaturii mai ridicate, necesare topirii (de la 300°C până la 1000°C) face ca procesele de reacție să se desfășoare cu o viteză mai mare. Al doilea avantaj este că în cazul fondanților, în contact cu proba există o cantitate mai mare de reactiv, ceea ce face ca reacția să fie nu numai rapidă ci și mai deplasată spre formarea de produși.

Tabelul 1. Fondanți uzuali

Fondant	Aplicații (neoxidanți)	Fondant	Aplicații (oxidanți)
Na_2CO_3	Silicați, fosfați, sulfați	Na_2CO_3+KNO_3	probe ușor oxidabile: Sb, S, Cr, Fe
NaOH, KOH	Silicați, carburi de siliciu	Na_2O_2	sulfuri, aliaje, metale insolubile în acizi: ferocrom, Ni, Mo, (fero)W
B_2O_3	Silicați, oxizi		

În ultimul timp se mai utilizează în calitate de fondanți H_3BO_3, boraxul calcinat ($Na_2B_4O_7$), pirosulfatul de potasiu ($K_2S_2O_7$), tetraboratul de litiu ($Li_2B_4O_7$), trioxidul de dibor (B_2O_3) și tetrafluoboratul de litiu ($LiBF_4$) sau diferite amestecuri ale acestora. Cu excepția pirosulfatului de potasiu, la care topirea se poate efectua și în creuzete de porțelan, cuarț sau chiar sticlă termorezistentă (Pyrex®) restul fondanților se utilizează în creuzete de platină, grafit sau platină-aur (95% Pt-5% Au). Ultimele două materiale, nefiind *udate* de sticla rezultată, conduc la rezultate mai bune, în ceea ce privește omogenizarea topiturii și turnarea probei în forme mai ales pentru analiza prin fluorescență de raze X.

Procedura practică este următoarea: se cântăresc 5 g Na_2CO_3 (sau alt fondant) la 1 g probă. Fondantul cântărit se pune într-un creuzet de platină, se cântărește apoi proba pentru analiză peste acesta și se omogenizează totul cu o baghetă. Se încălzește creuzetul treptat, până la topire, și se menține în această stare până la completa transformare a probei + fondant într-o soluție. În general, este suficientă o perioadă de 1/2 oră. Proba răcită, se tratează cu apă

fierbinte. Soluția rezultată, deși puternic alcalină, este corespunzătoare pentru o ulterioară separare sau chiar analiză chimică.

Extracția cu solvenți aflați în stare supracritică este o metodă de extracție mai puțin obișnuită dar care permite uneori realizarea unor performanțe inaccesibile celorlalte tehnici de extracție. Se aplică atât probelor lichide cât și solide. Se știe că peste temperatura critică orice lichid atinge o stare în care nu există deosebiri între fazele lichide și gazoase. Fiecare substanță are pe digrama fazelor în coordonate presiune-temperatură, un punct critic. Valorile p_c și T_c corespunzătoare acestui punct conconstituie limita inferioară de la care există starea supracritică. Câteva substanțe pot exista în stare supracritică chiar în condiții apropiate de temperatura mediului ambiant: CO_2, N_2O, $CHClF_2$. Aceste substanțe nu pun probleme nici în ceea ce privește toxicitatea, nici coroziunea. Folosind aceste substanțe în stare supracritică se pot realiza extracții imposibil de realizat prin alte metode. În principiu, se lucrează cu un recipient în formă de tub, rezistent la presiune, în care se pune proba (solidă sau o soluție) și apoi se introduce lichidul supracritic.

Se poate lucra în două variante. O primă variantă este maniera off-line care constă în depresurizarea fluidului - condiții în care acesta devine gaz și lasă analitul, împreună cu alte impurități, în forma unor picături pe pereții vasului. Apoi urmează un procedeu de dizolvare - extracție selectivă cu solvenți clasici sau folosind un cartuș de extracție cu suport solid unde se combină selectivitatea extracției cu adsorbția.

O a doua variantă este maniera on-line, în care produsul extracției este direct introdus într-o instalație cromatografică în funcțiune - fie una cu fluide supracritice, fie de tip HPLC. Ultima variantă se poate aplica doar când matricea probei nu interferă cu analitul.

Caracteristicile de solubilitate ale solventului supracritic CO_2 se pot modifica mai ales cu presiunea și temperatura. Dar ajustările fine ale solventului supracritic (fluidului supracritic) se mai pot modifica și prin introducerea în amestec a așa-numitor modificatori organici (metanol, acetonă), întrucât polaritatea CO_2 supracritic are o valoare coborâtă, comparabilă cu cea a hexanului (evident la 100atm și 35°C).

În rezumat, există 4 posibilități de a se modifica selectivitatea fluidului supracritic:

÷ Presiunea,

÷ Temperatura,

÷ Durata,

÷ Alegerea unor modificatori.

Extracția cu fluide supracritice este o metodă relativ costisitoare dar care se pretează la automatizare și, în condițiile unui număr mare de probe, devine totuși rentabilă. În cazul

moleculelor mari - polimeri, componente biochimice ale organismelor naturale - metoda este extrem de eficace.

Luarea probei în cazul monitorizării instrumentale

Dacă metodele chimice constituie cheia înțelegerii analizelor chimice în general, determinările de componenți ai aerului sau apei necesită metode instrumentale pentru că acestea dau semnale electrice care sunt mai uşor de prelucrat cu ajutorul calculatoarelor şi mai simplu de automatizat.

Luarea probelor de apă

De la vechile metode ce utilizau găleata şi sfoara (uneori folosite şi astăzi) în ultimul timp se pune tot mai mult problema eliminării influenței umane prin prelevarea probelor automat cu ajutorul pompelor. Legat de luarea probei în vederea monitorizării instrumentale, apar trei categorii de probleme:

÷ Localizarea monitorului față de obiectivul monitorizării;

÷ Poziția intrării în monitor;

÷ Alegerea dispozitivului de prelevare.

Localizarea monitorului depinde de mai mulți factori ca: reglementările autorităților locale, accesibilitatea instrumentului întreținere, existența unui sistem de service, ce tip de apă monitorizează instrumentul (apa ce intră într-o unitate sau o apă de suprafață).

Trebuie avute în vedere, în vederea stabilirii mărimii şi a formei stației de monitorizare, regulamentele autorităților locale. Tot acestea se au în vedere în selecția materialelor folosite, în evaluarea riscului de incendiu şi mai ales în alegerea amplasamentului. Existența unei surse de tensiune şi a unei linii telefonice în apropiere este de asemenea un considerent important în ceea ce priveşte alegerea locului de amplasare dar cel mai important considerent este totuşi tipul de informație care se va produce. Uneori interesul este concentrat pe efectele poluante ale unei fabrici, caz în care este recomandabilă monitorizarea poluanților atât în amonte cât şi în aval de unitatea urmărită. De asemenea, este firesc să se urmărească atât apa de intrare cât şi cea care părăseşte uzina (efluentul). Alteori, toată zona trebuie monitorizată şi în acest caz este necesară instalarea unei rețele de monitoare.

Poziționarea locului (gurii) de prelevare este de mare importanță. În general acesta trebuie să *se găsească la o distanță de maximum 25m de monitor*, deoarece altfel proba de apă poate fi afectată de diferența de temperatură, de aerul eliberat pe parcurs (care intră apoi în sistemul de analiză) sau de nămolul ce poate interfera cu conținutul în oxigen. Distanța de la

suprafața apei, pe verticală, depinde de tipul pompei folosite. *Este preferată o adâncime de 60 cm până la 1m* (evident de la nivelul suprafeței apei, dacă este posibil) deoarece sub acest nivel proba de apă va fi influențată de radiațiile solare, de flora bacteriană precum și de substanțele care plutesc în aer. Dacă proba se extrage prea aproape de fund, acesta va fi afectată de sedimentele agitate de către curenții de apă. Distanța de țărm în prelevarea probei în vederea monitorizării apelor de suprafață este de asemenea foarte importantă în obținerea unei probe reprezentative. Dacă este prea aproape de țărm aceasta va fi nisipoasă iar dacă e prea îndepărtată, sedimentarea pe conducta de aducțiune poate întrerupe colectarea probei. *Debitul trebuie să asigure o viteză a apei de 1-2m/sec* pentru a se evita sedimentarea, creșterea algelor pe conductă sau încălzirea probei.

Alegerea dispozitivului de prelevare nu pune probleme. Acesta este de regulă o pompă. Alimentarea prin cădere (gravitație) nu este recomandabilă pentru că majoritatea senzorilor utilizați în monitorizare trebuie să fie curățiți de către curentul de apă, care este necesar să aibă un debit suficient de mare. Desigur că pompa trebuie să facă față căderii de presiune și să nu se corodeze în soluția monitorizată. Dacă se respectă condițiile amintite, tipul pompei este de mai mică importanță. Aceasta poate fi plutitoare, subacvatică, montată pe rezervor, cu pistoane sau peristaltică. Pentru a se asigura siguranță în funcționare aceasta trebuie curățată și întreținută frecvent.

Cel mai des folosite metode de monitorizare a probelor de apă, din punct de vedere al protecției mediului, sunt prezentate în tabelul 2 iar dispozitivul de prelevare trebuie să țină cont, într-o oarecare măsură, și de acestea.

Tabelul 2. Principalii analiți din apele supuse monitorizării și tipul metodei utilizate curent

Analit	Tipul metodei
Ioni metalici	Absorbție atomică
Cationi și anioni	Cromatografie ionică
Ioni metalici, NH_4^+, NO_2^-, NO_3^- , SiO_2	Colorimetrie sau metode chimice
Metale, P, S	Spectrometrie de emisie, analiză prin activare, fluorescență X
Pesticide, substanțe cu P, S, ioni metalici în soluții	Metode cromatografice (de gaze sau lichide)
TOC (cont. total de carbon) și deficit de oxigen	Spectrometrie IR sau metode chimice
pH	Electrozi ion selectivi
Potențial redox (rH)	Electrozi redox

Luarea probelor de aer

Multe din principiile analizelor de aer se suprapun peste cele ale analizelor de apă. Locul de poziționare a punctului de prelevare trebuie de asemenea să țină cont de

reglementările locale şi de posibilităţile de intervenţie, respectiv de lucrările de întreţinere. În cazul aerului, rezultatele mai depind de direcţia şi viteza vântului, de gradientul vertical de temperatură, de topografia locului, de turbulenţa sau precipitaţiile prezente.

Studiile preliminare pentru formarea unei idei despre factorii ce trebuie avuţi în vedere sunt cel mai bine realizate pe staţii mobile, iar prin monitorizare se realizează modele matematice pe baza cărora se determină numărul optim de poziţii ale staţiilor de monitorizare. Poziţia intrării aerului în analizor trebuie să fie de aproximativ 3m de la sol respectiv 3m de orice structură excluzându-se orice zone cu aer imobil (de ex. cele din vecinătatea unui zid înalt).

Cel mai important considerent în luarea probelor de aer este tipul de poluant monitorizat. Pentru aer cele mai importante analize includ: dioxidul de sulf (SO_2), dioxidul de carbon (CO_2), monoxidul şi dioxidul de azot (NO, NO_2), hidrogenul sulfurat (H_2S), ozonul (O_3), particulele în suspensie, acidul fluorhidric (HF) şi hidrocarburile. Toate acestea sunt accesibile unor măsurători fizice în vederea monitorizării. În tabelul 3 se prezintă sintetic câteva dintre metodele preferate.

Tabelul 3. Principalele componente ale aerului supuse monitorizării şi tipul metodei

Component	Tipul metodei
Metale	Absorbţie atomică, fluorescenţă de raze X
Ioni/aerosoli	Cromatografie ionică
SO_2, H_2S, CO	Coulometrie (electrochimic)
SO_2, Hg	Fluorescenţă în UV, luminescenţă
NO, NO_2, O_3	Chemiluminescenţă
HF, F^-, pH	Electrozi ion selectivi
Pulberi în suspensie	Filtrare urmată de cântărire sau absorbţia radiaţiilor
Pesticide	Cromatografie de lichide de înaltă eficienţă

Întrebări de verificare

1. Cu ce se prelevează probele solide?
2. Ce instrument (aparat) serveşte în laborator pentru măsurarea probelor solide luate într-o analiză chimică?
3. În cazul probelor solide trebuie uneori luate precauții suplementare pentru ca acestea sa fie reprezentative. Despre ce fel de probe este vorba?
4. Care dintre următoarele substanțe se foloseşte ca solvent în condiții supracritice: SO_2, CO_2, H_2O?
5. În ce constă metoda cuartării?
6. În ce caz este utilă extracția lichid-lichid pe coloane cu suport solid?
7. Care este prima etapă în utilizarea cartuşelor de extracție pe suport solid?
8. Ce sunt discurile de extracție?
9. Ce exemplu de probă lichidă eterogenă apare frecvent în poluarea mediului?
10. Care este cea mai preferată metodă de prelevare a probelor de poluanți ai aerului?
11. Ce metodă se preferă în cazul unor poluanți aflați în concentrații coborâte în probe lichide (ape)?
12. Numiți trei tipuri de balanțe folosite la cântărirea probelor în laborator?
13. Ce metodă instrumentală se preferă în cazul analizei pesticidelor din ape?
14. Ce etapă elimină influența asupra rezultatului analizei a conținutului variabil de apă din probele solide?
15. Ce parametrii importanți trebuie menționați în cazul luării probelor de aer?
16. De ce parametru important trebuie ținut cont în cazul probelor solide?
17. Dați două exemple de fondanți uzuali şi două de fondanți folosiți în ultimul timp!
18. Ce se înțelege prin dezagregarea unei probe în vederea unei analize?
19. De ce este periculos acidul percloric în calitate de reactiv pentru dezagregare?
20. La ce distanță maximă față de monitor trebuie să se afle gura pentru luarea probei de apă din mediu?
21. Care este metoda preferată în cazul poluării cu metale atât în cazul apelor cât şi în cazul aerului?
22. Ce metodă este preferată pentru determinare NO, NO_2, O_3 în cazul monitorizării poluării aerului?
23. Ce dispozitive se preferă pentru luarea probelor de poluanți ai aerului?

Chimia ...este una dintre cele mai cuprinzătoare ramuri ale ştiinţei, pentru simplul motiv că atunci când ne gândim la ea, totul este chimie.
Luciano Caglioti, The two faces of Chemistry, MIT Press, Massachusetts, 1985

Metode chimice de analiză - interferenţe cu analizele instrumentale

La începuturile analizelor chimice, aceste metode - *gravimetria* şi *volumetria* - erau considerate singurele *metode absolute*. În aceste metode măsurătorile permit calculul direct al masei de analit (dintr-o probă) fără a mai fi nevoie de etalonări, neapărat cu acelaşi analit. Restul metodelor - considerate *relative* - este format din majoritatea metodelor instrumentale şi au nevoie, în vederea analizei chimice, de o comparaţie a măsurătorii, efectuate pe proba necunoscută, cu măsurători executate pe probe etalon - cunoscute. Realitatea este că şi metodele chimice utilizează instrumente (balanţa analitică - azi balanţa electronică, biureta şi pipetele - azi automate, baloanele cotate etc.), respectiv substanţe etalon - substanţe pure şi cu compoziţie cunoscută. Pe de altă parte, există şi metode instrumentale absolute. Este vorba de *metoda coulometrică* şi *metoda absorbţiei radiaţiilor* (în cazul determinării pulberilor în suspensie din aer) care azi sunt recunoscute ca metode absolute.

Metodele instrumentale au păstrat însă anumite similarităţi cu metodele chimice amintite, de exemplu cântărirea probelor cu balanţa - folosită pe larg în gravimetrie - sau aducerea soluţiilor analiţilor în baloane cotate - utilizată mult şi în volumetrie. Considerăm, de aceea, incompletă cunoaşterea analizelor instrumentale fără un minim de cunoştinţe legate de aceste metode.

Dacă nu faci parte din soluţie, faci parte din precipitat
Steven Wright (Actor comic american)

Metode de precipitare şi gravimetria

Procesul de precipitare este cunoscut de foarte mult timp ca un procedeu folosit pentru separare. *Separarea prin precipitare se bazează pe diferenţele între stabilităţile precipitatelor, în anumite condiţii experimentale* [64].

Nu toate reacţiile de precipitare sunt cantitative. De exemplu Pb(II) poate fi precipitat sub formă de $PbCl_2$, la rece. Creşterea temperaturii face să crească foarte mult *solubilitatea* $PbCl_2$. Adeseori sunt precipitate, filtrate şi astfel separate *grupe de ioni metalici*. Un exemplu clasic este separarea ionilor metalici bazată pe solubilitatea sulfurilor (tabelul 1).

[64] Kekedy L., *Chimie Analitică Calitativă*, Ed. Scrisul Românesc, Craiova, 1970.

Tabelul 1. Schema cu hidrogen sulfurat

<table>
<tr><td colspan="6">(1) Se adaugă HCl diluat şi se centrifughează</td></tr>
<tr><td rowspan="3">(2) pp.[1] I: AgCl, Hg_2Cl_2, $PbCl_2$. spălare, prelucrare</td><td colspan="5">(3) sol.[2] I: cationii grupelor 2-5. La pH = 0.5 se saturează cu H_2S şi se centrifughează</td></tr>
<tr><td colspan="2">(4) pp. II: HgS, PbS, Bi_2S_3, CuS, CdS, As_2S_3, Sb_2S_3, SnS_2 + KOH, centrifugare</td><td colspan="3">(7) sol. II: AsO_2^- şi cationii grupelor 3-5. Se pp. As şi se centrifughează; se îndepărtează excesul de H^+ şi H_2S; se adaugă NH_4Cl, NH_3; se adaugă H_2S; se centrifughează</td></tr>
<tr><td>(5) pp. IIa: HgS, PbS, Bi_2S_3, CuS, CdS</td><td>(6) sol. IIb: HgS_2^-, AsO_2^-, AsS_2^-, $Sb(OH)_4^-$, SbS_2^-, $Sn(OH)_6^-$, SnS_3^-</td><td>(8) pp. III: NiS, CoS, $Al(OH)_3$, $Cr(OH)_3$, Fe_2S_3, MnS, ZnS</td><td colspan="2">(9) sol. III: cationii gr. 4-5. + CH_3COOH, se fierbe (îndepărtarea H_2S); se centrifughează; se aruncă reziduul; se evaporă soluția; + H_2O, NH_4Cl, $(NH_4)_2CO_3$; se centrifughează
(10) pp. IV: $BaCO_3$, $SrCO_3$, $CaCO_3$, $MgCO_3$ | (11) sol. IV: Mg^{2+}, K^+, Na^+</td></tr>
</table>

[1] pp = precipitat; [2] sol. = soluție

În alte cazuri, scopul principal al precipitării este purificarea. În orice caz, procedeele de analiză gravimetrică şi cele de separare prin precipitare sunt similare.

Gravimetria este o metodă de analiză cantitativă bazată pe măsurarea masei unui precipitat. Toate măsurătorile pentru determinarea masei sunt efectuate în acest caz cu balanța analitică. *O analiză gravimetrică* se realizează printr-o serie de etape experimentale: se cântăreşte exact proba ce trebuie analizată; se dizolvă proba cântărită; printr-un procedeu adecvat se înlătură speciile ce pot interfera în metoda aleasă; se ajustează condițiile experimentale: pH, stare de oxidare, concentrație; se adaugă agentul de precipitare adecvat (organic sau anorganic); precipitarea se face în soluții diluate la cald; se separă precipitatul prin filtrare; se spală precipitatul; se usucă, calcinează şi aduce la masă constantă precipitatul; se calculează constituentul analizat din probă bazat pe stoechiometrie.

Procedeele electrogravimetrice se bazează pe o reacție electrochimică într-o celulă de electroliză care conține soluția probei, prin reglarea curentului şi potențialului. Se depune specia de analizat pe catod, care se cântăreşte înainte şi după depunere.

Degajarea de gaze este de asemenea folosită gravimetric. Se înregistrează pierderea de masă a probei prin volatilizarea unei părți din probă.

Gravimetria

În *gravimetrie* analiza chimică se bazează pe cântărirea exactă a unei substanțe solide, pure, provenite din analit, folosind procedee specifice. Este vorba, în primul rând, de separarea prin *precipitare* a unui ion aflat într-o soluție rezultată din probă sau, mai rar, de îndepărtarea prin volatilizare a unei specii chimice devenite gaz la încălzire în tehnica denumită gaz-gravimetrie.

Analiza gravimetrică începe, ca orice analiză chimică cantitativă, cu cântărirea la *balanța analitică* (fig. 2) a unei mase de probă - solidă sau lichidă - care se supune mai întâi unor transformări chimice. După realizarea *solubilizării* sau *dezagregării probei*, în gravimetrie specia chimică analizată se izolează, de regulă, printr-o operație numită *precipitare*. Evident, substanța precipitată trebuie să fie una foarte greu solubilă astfel încât în soluția rămasă (denumită soluție mumă) să nu mai rămână decât o cantitate infimă din aceasta. Cantitatea rămasă în soluție trebuie să fie sub limita de sensibilitate a balanței analitice, deci o cantitate atât de mică încât să nu mai poată fi sesizată de către balanță și care, în consecință, nu modifică rezultatul. Apoi, precipitatul se separă prin filtrare, urmată obligatoriu de o spălare. Se obține, în final, compusul precipitat pur care, după uscare sau uscare și calcinare, se cântărește.

Câteva exemple de reacții cu formare de precipitate sunt:

÷ $Ba^{2+} + SO_4^{2-} \rightarrow BaSO_4$ (pentru determinarea sulfatului),

÷ $Ag^{+} + Cl^{-} \rightarrow AgCl$ (pentru analiza argintului sau clorurii),

÷ $Ca^{2+} + C_2O_4^{2-} \rightarrow CaC_2O_4$ (pentru determinarea calciului).

Gama reacțiilor folosite este foarte diferită și de aici denumirea de metodă chimică care se dă gravimetriei. De exemplu, se pot folosi reactivi care reduc specia chimică solubilă la un element pur - insolubil. Astfel, clorhidratul de hidroxilamină ($NH_2OH \cdot HCl$) se poate folosi pentru reducerea Au, Se, Te la precipitate metalice din combinații solubile ale acestora.

Dintre metodele care au la bază îndepărtarea unei combinații la încălzire, amintim reacția de volatilizare a silicei cu acid fluorhidric (reacția se execută într-un creuzet de platină sub nișă):

$$SiO_{2(s)} + 4HF_{(l)} \rightarrow SiF_{4(g)} + 2H_2O_{(l)}$$ (pentru analiza siliciului)

Reacțiile folosite în gravimetrie trebuie să îndeplinească câteva condiții:

÷ Să fie, în anumite condiții, cantitative,

÷ Să rezulte combinații bine definite,

÷ Să aibă loc cu viteză suficient de mare,

÷ Produsele reacțiilor trebuie să fie ușor filtrabile și să nu se redizolve în urma spălării.

După filtrare şi spălare, se îndepărtează apa prin uscare la etuvă şi, de regulă, urmează o calcinare în cuptor - proces prin care compoziția chimică se poate modifica.

Un exemplu simplu de analiză gravimetrică îl constituie determinarea ferului. Etape:

1. Se aduc prin calcinare creuzetele la pondere constantă (2-3 probe paralele).
2. Se oxidează soluția conținând fer, provenită din solubilizarea unei mase de probă cunoscute, utilizând oxidanți potriviți: ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$)
3. Se precipită hidroxidul de fer, $Fe(OH)_3$ care se filtrează şi se spală.
4. Se calcinează precipitatul într-un creuzet (rezultă Fe_2O_3).
5. Se cântăreşte suma creuzet + Fe_2O_3.
6. Se calculează conținutul de Fe din probă din masa probei şi masa de precipitat pur obținut.

Referitor la ultimul punct se obişnuieşte, pentru lucrul în laborator, simplificarea calculului stoechiometric prin utilizarea unui *factor gravimetric*, deosebit de la o substanță la alta. Acest factor se calculează înainte de analiză astfel încât imediat după cântărirea finală produsul dintre masa precipitatului şi factorul gravimetric dă direct masa analitului. Pe baza acestei mase se exprimă rezultatul final al analizei.

Să considerăm că avem de stabilit compoziția unei probe din specia A şi masa acesteia se va determina pe baza cântăririi unei mase de precipitat, $m_{ppt.}$ Se poate scrie, pe baza celor afirmate anterior:

$$m_A = f \cdot m_{ppt} \qquad (1)$$

unde f este factorul gravimetric. Cu ajutorul masei m_A se poate exprima concentrația de analit A din cele *m* grame de probă, cu care s-a pornit în analiză:

$$\%A = \frac{m_A}{m} \cdot 100 \qquad (2)$$

sau

$$\%A = \frac{f \cdot m_{ppt}}{m} \cdot 100 \qquad (3)$$

În cazul exemplului dat anterior - legat de determinarea gravimetrică a ferului - lanțul de transformări chimice poate fi ilustrat în fig. 1.

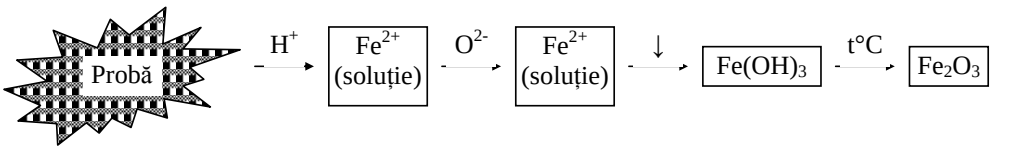


Fig. 1. Schema lanțului de transformări chimice în determinarea gravimetrică a ferului

Dacă notăm cu $M_{Fe_2O_3}$ masa unui mol de oxid de fer (III) și cu M_{Fe} masa atomică a ferului avem (v. fig. 1) corespondențele:

$$M_{Fe_2O_3} \ldots\ldots\ldots 2 \cdot M_{Fe}$$
$$M_{ppt} \ldots\ldots\ldots\ldots x$$
$$x = m_{ppt} \cdot 2M_{Fe} / M_{Fe_2O_3}$$

Se poate observa că în acest caz factorul gravimetric este:

$$f = \frac{2M_{Fe}}{M_{Fe_2O_3}} \qquad (4)$$

Analog se calculează pentru orice specie chimică analizată factorul gravimetric corespunzător.

Factorul gravimetric trebuie să fie cât mai mic pentru că astfel erorile analizelor sunt mai mici

Metodele gravimetrice sunt dificile şi consumatoare de timp. Însă, dacă sunt executate de personal calificat, sunt cele mai exacte metode de analiză chimică cunoscute. Etaloanele materialelor folosite în analizele instrumentale sunt analizate prin astfel de procedee.

În rezumat, succesiunea de operații din cadrul analizelor gravimetrice este următoarea:

1. Cântărirea probei şi dezagregarea;
2. Precipitarea;
3. Filtrarea;
4. Spălarea precipitatului;
5. Uscarea;
6. Calcinarea;
7. Cântărirea;
8. Calculul.

Balanța analitică

Instrumentul de măsură utilizat pe larg în gravimetrie este balanța analitică (fig. 2). Aceasta are o sensibilitate ridicată, care permite determinarea masei cu un număr mare de cifre semnificative (3-5 cifre). Puține instrumente fizice permit o astfel de performanță. De asemenea permite măsurarea precisă a maselor cu o eroare $\pm 2 \cdot 10^{-4}$g. De aceea, balanța analitică se considera, până la apariția etaloanelor comerciale, inima laboratorului de analize chimice. Fiind un instrument exact şi precis, balanța necesită în cadrul laboratorului analitic instrumental un *plasament privilegiat, într-o încăpere fără circulație, fără variații mari de temperatură şi pe un suport ferit de vibrații*. Balanțele moderne au încorporate greutățile care le mențin exactitatea pe perioade mari de timp. Periodic toate balanțele au nevoie de verificare

și atestare metrologică. Acestea se fac prin comparație cu setul de greutăți etalon existente în cadrul rețelei naționale a serviciilor de metrologie.

Fig. 2. Aspectul unei balanțe analitice

Câteva reguli importante în ceea ce privește lucrul la balanță sunt următoarele:

- Nu se pun obiecte pe masa balanței după aducerea acesteia la zero.
- Substanțele pulverulente se vor cântări pe hârtie cerată, folii de plastic sau în fiole de cântărire. Obiectele cântărite nu se ating cu mâna ci se folosesc mănuși, pensete sau clești pentru a se preveni modificarea maselor datorită umezelii mâinii.
- Obiectele calde se vor răci în prealabil la temperatura camerei.
- Materialele higroscopice se vor cântări rapid pentru a absorbi cât mai puțină apă pe parcursul cântăririi.
- Când se fac mai multe cântăriri paralele se vor folosi aceleaşi procedee de cântărire.

Balanța analitică este mult utilizată în analiza instrumentală. În afară de cântărirea probelor în vederea analizelor aceasta mai este folosită pentru realizarea soluțiilor etalon sau a probelor etalon sintetice, solide, folosite pentru comparație în diversele instrumente analitice care vor face obiectul următoarelor capitole.

Aproape toate procesele chimice care au loc în natură, fie că este vorba de organismele animale fie de cele vegetale, sau de porțiunea lipsită de viață a pământului..., au loc între substanțe aflate în soluție
Wilhelm Ostwald (1853-1932), Chimist german

Volumetria

În *volumetrie*, denumită și *analiză volumetrică* sau *titrimetrie*, concentrația analitului din probă se determină măsurând precis volumul de reactiv consumat - *reactiv aflat sub formă de soluție*. Operația de măsurare a volumului se numește *titrare*.

Titrarea este operația de adăugare treptată, în porțiuni mici, utilizând o *biuretă*, a reactivului până la terminarea reacției, când se atinge așa-numita *echivalență*, adică reactivul cu care se titrează este în cantitate echivalentă cu analitul din probă. Reactivii folosiți sunt soluții diluate a căror concentrație se exprimă molar sau normal, de exemplu: $0,1 mol \cdot L^{-1}$ (sau 0,1M) respectiv $0,1 e \cdot L^{-1}$ (sau 0,1N). În vederea utilizării analitice, soluției i se determină (sau calculează) *titrul*, notat T - adică masa, exprimată în grame, conținută într-un mililitru.

Evident, reacția care are loc este una precis cunoscută și este cantitativă, iar concentrația reactivului (titrul) este de asemenea stabilită cu exactitate, înainte de efectuarea analizei. Reactivul utilizat poartă și numele de *titrant* și se prepară fie cântărind la balanța analitică o substanță denumită *etalon primar* (care se aduce la un volum cunoscut), fie stabilindu-se conținutul exact al acestuia printr-o titrare față de un alt etalon primar. În acest ultim caz vorbim de un *etalon secundar*.

Punctul în care s-a consumat tot analitul se numește *punct de echivalență*. Calculul se face cunoscând masa de probă, volumul de reactiv consumat până la punctul de echivalență și stoechiometria reacției. Ca și la metoda gravimetrică, pentru a se mări viteza de calcul, se calculează în prealabil, pe baze stoechiometrice, un *factor volumetric* care înmulțit cu volumul de echivalență dă direct masa analitului.

Stabilirea punctului de echivalență se realizează și cu ajutorul *indicatorilor*. Există două tipuri de indicatori: *vizuali* (tabelul 2) și *instrumentali*. Indicatorii vizuali pot fi chiar reactivii - dacă sunt intens colorați (cazul $KMnO_4$) - care-și modifică prin reacție culoarea, sau sunt reactivi de culoare, adăugați în cantități mici, care interacționează cu excesul de titrant imediat după echivalență. Aceștia sunt foarte diferiți în funcție de reacția utilizată și permit, prin schimbarea bruscă a culorii indicatorilor, sesizarea atingerii echivalenței. De exemplu, în titrarea acido-bazică se poate folosi fenolftaleina sau albastrul de brom-timol. În titrările care folosesc alte tipuri de reacții (v. mai jos) se folosesc alți indicatori.

Folosirea unor instrumente pentru stabilirea punctului de echivalență se mai numește *titrimetrie instrumentală*. Teoretic, se poate folosi oricare din instrumentele care formează

obiectul prezentei lucrări dar, în realitate, se apelează doar la metodele puțin costisitoare, pentru că avantajul principal al volumetriei este tocmai prețul de cost coborât.

Tabelul 2. Indicatori de culoare bazați pe pH

Nr	Denumire	pH [65]	λ_{max} [66]	culoare [67]	soluție [68]
1	2,4,6-trinitrofenol, acid picric	0.6-1.3		i/g	
2	timolsulfonftaleină, albastru de timol	1.2-2.8	544.4	r/g	0.04% aq
3	2,4-dinitrofenol, α-dinitrofenol	2.4-4.0		i/g	0.1% alc
4	tetrabromofenolsulfonftaleină, albastru de bromfenol	3.0-4.6	436.6	g/b	0.4% aq
5	roşu de congo	3.0-5.0	520.2	b/r	0.04% aq
6	p-sulfonat de dimetilaminobenzen, metiloranj	3.1-4.4	522.5	r/o	0.1% aq
7	tetrabromo-m-crezolsulfonftaleină, verde de bromcrezol	3.8-5.4	444.6	g/b	0.1% aq
8	acid dimetilaminobenzen-o-carboxilic, roşu de metil	4.2-6.3	530.4	r/g	0.1% alq
9	dibrom-o-crezolsulfonftaleină, purpuriu de bromcrezol	5.2-6.8	433.6	g/p	0.04% aq
10	dibromotimolsulfonftaleină, albastru de bromtimol	6.2-7.6	433.6	g/b	0.5% aq
11	fenolsulfonftaleină, roşu de fenol	6.8-8.4	433.6	g/r	0.05% aq
12	o-crezolsulfonftaleină, roşu de crezol	7.2-8.8	434.6	g/r	0.05% aq
13	timolsulfonftaleină, albastru de timol	8.0-9.6	430.6	g/b	0.04% aq
14	di-p-dioxidifenilftalidă, fenolftaleină	8.3-10	553	i/p	0.05% alq
15	ditimolftalidă, timolftaleină	9.3-10.5	598	i/b	0.04% alq
16	acid m-nitrobenzenazosalicilic, galben de alizarină	10-12	550	i/g	0.1% alc
17	nitramină, 2,4,6-trinitrofenolmetilnitramină	10.8-13	550	i/o	0.01% aq

Reacțiile chimice

Reacțiile chimice pe care se bazează titrimetria trebuie să fie echilibre chimice, practic total deplasate spre dreapta. Aceste echilibre trebuie să se stabilească rapid, deci vitezele de reacție trebuie să fie mari. Reacțiile consacrate în volumetrie, care îndeplinesc condițiile amintite, sunt cele din categoria echilibrelor ionice (unde cu Ox şi Red s-au notat formele oxidate şi reduse ale partenerilor redox iar cu M şi L s-au notat ionul metalic, respectiv ligandul):

÷ Reacții acid-bază (ambele tari) : $H^+ + OH^- \rightleftharpoons H_2O$;

÷ Reacții redox: $Ox_1 + Red_2 \rightleftharpoons Red_1 + Ox_2$;

÷ Reacții de complexare: $M + nL \rightleftharpoons ML_n$.

În general constantele de echilibru ale acestor reacții trebuie să fie mai mari de 10^6. Reacțiile de precipitare se utilizează, dar destul de rar. Cele care se aplică sunt cele care duc la precipitate cu produse de solubilitate mai mici de 10^{-10}.

[65] valoarea de la care şi valoarea la care se încheie schimbarea culorii indicatorului;
[66] *lungimea de undă* (nm) la care are loc absorbția maximă şi permite vizibilitatea maximă a schimbării culorii indicatorului;
[67] r = roşu, g = galben, p = purpuriu, b = albastru, i = incolor, o = oranj, v = verde;
[68] *aq* = soluție apoasă; *alc* = soluție alcoolică; *alq* = soluție echivolumetrică alcool+apă;

Etaloane primare şi secundare

Aşa cum am amintit, pentru prepararea reactivilor folosiți în titrări se utilizează substanțe etalon, primare sau secundare. Primele - *etaloanele primare* (denumite şi substanțe standard, titrimetrice sau de referință) sunt reactivi activi din punct de vedere chimic, extrem de puri, stabili şi care au o masă moleculară ridicată. Din aceste substanțe, prin simplă cântărire urmată de dizolvare şi aducerea la un volum cunoscut, se obțin soluții cu titru cunoscut, care pot fi utilizate ca atare în analizele volumetrice. Exemple de astfel de substanțe sunt: carbonatul de potasiu (K_2CO_3), acidul oxalic, $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$, pentru titrările acido-bazice, iodatul acid de potasiu, $KH(IO_3)_2$, permanganatul de potasiu, $KMnO_4$, iodul, I_2, sulfatul fero-amoniacal, $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), pentru titrările redox şi complexonul III, respectiv acetatul de zinc, pentru cele complexometrice.

Etaloanele secundare sunt tot substanțe pure, reactive şi totodată ieftine dar, pentru că nu sunt stabile în contact cu atmosfera (absorb apă fiind higroscopice, pierd apă de cristalizare etc.), titrul soluțiilor acestora se stabileşte pe baza unor etaloane primare. Acestea sunt de multe ori preferate în cazul analizelor în serie. Dintre etaloanele secundare cele mai folosite amintim: NaOH, KOH, HCl, H_2SO_4, tiosulfatul de sodiu ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$).

Erori care intervin în măsurarea volumelor

Metoda volumetrică nu este la fel de exactă ca metoda gravimetrică în primul rând datorită limitelor impuse de instrumentele pentru măsurarea volumelor. Cum instrumentele uzuale nu permit evaluarea decât a 3 cifre semnificative, chiar lucrând perfect, erorile vor fi de ordinul celei de-a treia cifre şi în rezultatul final. Dacă este vorba de concentrații sub 10% acestea sunt convenabile (de ex: 7.85±0,01%). Dar pentru a se obține rezultate de încredere este necesară cunoaşterea tuturor factorilor care duc la erori în măsurătorile de volum indiferent de instrumentele folosite: pipete, biurete sau baloane cotate.

Eroarea de picurare (sau de picătură) se datoreşte faptului că volumul de reactiv adăugat în vasul conic din biuretă nu poate fi mai mic de o picătură - anume ultima picătură înainte de schimbarea culorii. Aşadar, eroarea de picurare este o eroare inevitabilă în orice titrare. Valoarea acestei erori se exprimă prin ecuația:

$$\text{Eroare de picurare} = p\% = \frac{v}{V} \cdot 100 \qquad (5)$$

unde v este volumul unei picături (0.03 ml), iar V - volumul de reactiv utilizat până la punctul de echivalență. Se poate observa că cu cât valoarea V este mai mare cu atât eroarea de picurare, p%, scade. De aceea titrările trebuie reglate astfel încât să se utilizeze aproape întreaga scală a biuretei. De asemenea, prin folosirea unor orificii cât mai înguste ale

biuretelor şi hidrofobizarea porțiunii de la ieşirea acestora, volumele picăturilor pot fi şi mai mult reduse.

Eroarea de curgere se datoreşte aderenței neuniforme a lichidului la pereții vaselor de măsurare a volumelor. În general, această eroare creşte o dată cu murdărirea pereților, dar şi cu creşterea raportului suprafață/volum.

Prima cauză se îndepărteză prin tehnicile de curățire a vaselor de laborator, astfel ca lichidul, practic, să nu adere la pereți.

Pentru a înțelege factorii de care depinde a doua cauză, să considerăm aria laterală, S, a lichidului dintr-o biuretă, de rază r, pentru înălțimea h. Aceasta este:

$$S = 2\pi rh \tag{6}$$

iar volumul, V de lichid evacuat corespunzător acestei înălțimi este:

$$V = \pi r^2 h \tag{7}$$

Din aceste două ecuații eliminând πrh se obține:

$$S = \frac{2V}{r} = \frac{4V}{D} \tag{8}$$

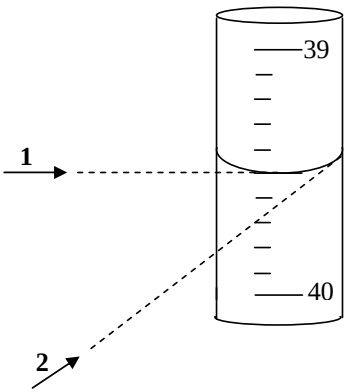


Fig. 3. Eroarea de paralaxă creşte citind incorect diviziunea: 1-corect; 2-incorect

Se poate observa că pentru a se realiza o suprafață mai mică, la acelaşi volum de titrare, este necesar un diametru cât mai mare al biuretei. De aceea biuretele înguste nu sunt avantajoase. În vederea diminuării acestei erori se aşteaptă 30s după căderea ultimei picături înainte de citire.

Eroarea de paralaxă (de citire) este eroarea care apare datorită poziției înclinate a biuretei sau a citirii incorecte, adică dintr-un unghi diferit de 90° față de aceasta (fig. 3).

Eroarea de temperatură apare în laboratoarele în care nu se respectă temperatura pentru care sunt etalonate aparatele din sticlă (20°C). Acest lucru provoacă o dilatare sau

contracție a sticlei şi o dată cu aceasta se modifică volumul măsurat, V, față de cel citit, V_0, γ fiind coeficientul de dilatare volumic al sticlei (această eroare poate fi îndepărtată prin calcul):

$$V = V_0[1 + \gamma(t-20)] \quad (9)$$

Eroarea de histerezis se datoreşte necunoaşterii fenomenului de histerezis manifestat de dimensiunile sticlei ca funcții de temperatură. Astfel, sticla o dată încălzită se dilată dar la răcire, nu mai revine la dimensiunile inițiale, păstrând o dilatare remanentă. Similar, la răcire sticla se contractă dar, revenind la temperatura camerei, nu își recapătă dimensiunile inițiale ci vasul are un volum mai mic. Acest lucru face ca citirile la baloane cotate uscate la cald, prin neglijarea acestui fenomen, să ducă la erori nebănuit de mari. În consecință, aparatura de măsurare a volumelor din sticlă se va păstra, după verificarea volumului, la o temperatură constantă, nu se va usca în etuvă şi nu se va încălzi sau lăsa în magazii neîncălzite. De aceea şi aparatura de măsurarea volumelor trebuie periodic verificată metrologic pentru a se obține rezultate de încredere.

Etapele analizei volumetrice

În majoritatea cazurilor metodele volumetrice parcurg următoarele etape:

1. Prepararea reactivilor.
2. Cântărirea probei, dezagregarea şi aducerea la balon cotat a soluției limpezi.
3. Pipetarea unei cote-părți (de exemplu 1/10 din conținutul balonului cotat) şi tratarea fizico-chimică în laborator.
4. Titrarea în prezența unui indicator.
5. Calculul.

Se remarcă, dacă comparăm cu *etapele metodei gravimetrice*, că sunt mai puține etape. Metoda este mult mai rapidă, mai ieftină dar mai puțin exactă. De multe ori cele două metode se aplică simultan pe aceeaşi probă - un component se determină gravimetric iar altul volumetric - în filtratul rezultat după precipitare.

Calculul în volumetrie

Calculul analitului se realizează pe baza volumului de echivalență. Pentru o mai bună înțelegere vom prezenta calculul în două etape: (1) calculul masei de analit din proba titrată şi (2) calculul concentrației de analit din proba supusă analizei. În instrucțiunile standardizate de analiză chimică se prezintă doar o singură formulă care înglobează ambele etape ale calculului.

Pentru început să prezentăm *factorul*, notat F, utilizat adeseori în formulele de calcul. Acesta a fost introdus deoarece reactivii volumetrici întâlniți în practică nu sunt de

normalitate exactă (sau de factor 1) - așa cum am dori să-i preparăm. Astfel, în loc să obținem o soluție exact 0.1N de NaOH obținem, de exemplu, o soluție 0.115N adică o soluție *aproximativ normală* (cu factorul 1.15). *Trecerea volumului,* V, *măsurat într-o titrare executată cu o soluție aproximativ normală, într-un volum teoretic,* V_t, *de soluție exact normală* (0.1 N în exemplul de mai sus) *se realizează cu ajutorul factorului* F. Astfel, dacă ținem cont că ambele volume conțin aceeași masă de reactiv de titrare, m_r, putem scrie:

$$m_r = V \cdot T_r = V_t \cdot T_t \tag{10}$$

unde T_r este titrul soluției în realitate (real) iar T_t - titrul teoretic al soluției exact normale. De aici putem exprima volumul V_t:

$$V_t = V \cdot \frac{T_r}{T_t} \tag{11}$$

sau:

$$V_t = V \cdot F \tag{12}$$

Deci,

factorul înmulțit cu volumul de titrare transformă acest volum într-un volum de normalitate exactă

÷ Calculul propriu zis al *masei de analit în volumetrie* se bazează pe *legea echivalenților* şi anume: *într-o reacție cantitativă numărul echivalenților celor doi reactivi, 1 şi 2, este egal.* De aceea putem scrie:

$$n_{E,1} = n_{E,2} \tag{13}$$

unde cu $n_{E,1}$ şi $n_{E,2}$ am notat numărul de echivalenți din reactivii 1, respectiv 2. Dacă considerăm că reactivul 1 este titrantul fie volumul acestuia V, cu factorul F şi normalitatea exactă N. Ca urmare putem scrie:

$$n_{E,2} = V \cdot F \cdot N \tag{14}$$

unde cu $n_{E,2}$ am notat numărul de echivalenți ai substanței de analizat, 2.

De aici calculul masei analitului, m_A se va putea face cunoscând echivalentul gram E_A al analitului:

$$m_A = n_{E,2} \cdot E_A = V \cdot F \cdot N \cdot E_A \tag{15}$$

÷ *Calculul concentrației procentuale de analit,* %A, din proba de analizat se face ținându-se cont de masa de probă, m, cântărită inițial. Astfel, exprimând procentul din întreg:

$$\%A = \frac{m_A}{m} \cdot 100 \tag{16}$$

Ținându-se cont de cele amintite anterior, aceeaşi concentrație se poate exprima în funcție de datele titrării:

$$\%A = \frac{V \cdot F \cdot N \cdot E_A}{m} \cdot 100 \tag{17}$$

S-a obținut astfel una din formulele de calcul frecvent prezentă în instrucțiunile de lucru standardizate.

Uneori aceeeași relație se scrie în funcție de titrul teoretic, T. Astfel se poate observa că $V \cdot F \cdot N \cdot E_A = V \cdot F \cdot T$ iar ecuația precedentă devine:

$$\%A = \frac{V \cdot F \cdot T}{m} \cdot 100 \qquad (18)$$

O aplicație în controlul analitic al apelor

Alcalinitatea este o caracteristică a apelor care se determină utilizând metode volumetrice. În cazul unei ape alcalinitatea se poate evalua prin capacitatea acesteia de a neutraliza acizii. Sursa alcalinității în cazul apelor naturale o constituie următorii ioni:

÷ Bicarbonat (HCO_3^-);

÷ Carbonat (CO_3^{2-});

÷ Hidroxid (OH^-).

Sărurile altor acizi slabi cum ar fi: borați, silicați sau fosfați mai pot contribui doar accidental la alcalinitate. De asemenea câteva săruri ale unor acizi organici pot contribui de asemenea la aceasta, dar numai în apele poluate sau lipsite de aerație şi într-o măsură foarte mică. *Contribuția majoră la alcalinitate o are bicarbonatul.* Alcalinitatea adusă de ionii carbonat, CO_3^{2-}, şi hidroxid, OH^-, poate deveni importantă doar atunci când activitatea algelor din ape este ridicată sau în apele industriale.

De alcalinitate trebuie să se țină cont în toate procesele de tratare a apelor potabile sau reziduale. Aceasta acționează ca tampon de pH în coagulare sau în procesele de dedurizare cu var şi sodă.

După modul de evaluare a alcalinității distingem: *alcalinitatea față de fenolftaleină* şi *alcalinitatea totală*. Ambele se determină prin titrare cu un acid tare până la virajul indicatorului sau cu ajutorul unui pH-metru.

Alcalinitatea față de fenolftaleină se determină prin titrarea apei cu acid sulfuric până la pH-ul de viraj al indicatorului fenolftaleină (8.3) marcând tot hidroxidul şi jumătate din carbonatul prezent, ceea ce se poate simboliza: $OH^- + {}^1/_2CO_3^{2-}$

Alcalinitatea totală se poate măsura până la pH-uri diferite (5.1; 4.8; 4.5 sau 3.7) în funcție de conținutul de dioxid de carbon prezent. Aceasta reflectă întreaga alcalinitate dată de hidroxid, carbonat plus bicarbonat: $OH^- + CO_3^{2-} + HCO_3^-$.

Valoarea de pH până la care se face determinarea este următoarea:

÷ 30 $mg \cdot L^{-1}$ CO_2 - pH = 5.1

÷ 150 $mg \cdot L^{-1}$ CO_2 - pH = 4.8

÷ 150 mg·L^{-1} CO_2 - pH = 4.5

÷ În cazul prezenței silicaților și fosfaților - pH = 4.5

÷ Reziduuri industriale sau sisteme complexe - pH = 3.7

Reactivul folosit în titrare este soluția diluată de acid sulfuric. Una din reacțiile care au loc este:

$$OH^- + H_2SO_4 = 2H_2O + SO_4^{2-}$$

care se termină la pH = 10. Dacă se lucrează în prezența indicatorului fenolftaleină (inițial roz) care se decolorează la pH = 8.3 mai are loc și o parte (1/2) din reacția:

$$2CO_3^{2-} + H_2SO_4 = 2HCO_3^- + SO_4^{2-}$$

Continuând titrarea până la pH = 4.5 are loc conversia totală a carbonatului dar și a tuturor ionilor bicarbonat existenți în acea apă, la acid carbonic:

$$2HCO_3^- + H_2SO_4 = 2H_2CO_3 + SO_4^{2-}$$

Indicatorul uzual folosit în acest caz este metilorange-ul (viraj galben → roșu). Deoarece culorile sunt apropiate în spectru și pot fi mai greu sesizate vizual se folosește, mai recent, albastru de brom-fenol (albastru→galben) sau roșu metil în amestec cu verde de brom-crezol, ale căror culori se modifică cu pH-ul , după cum urmează:

÷ Verde deschis → gri albăstrui, pH = 5.1

÷ Violet deschis → gri, pH = 4.8

÷ Roz deschis, pH = 4.5.

Pentru interpretarea rezultatului, în ceea ce privește specia chimică care determină alcalinitatea, se ține cont de cele 5 cazuri posibile - prezentate în tabelul 3.1. Rezultatul se prezintă în funcție de caz. Se observă că pot exista situații când anumiți ioni pot lipsi.

Tabelul 3. Rezultate posibile în determinările de alcalinitate

Caz	Rezultat	OH^-	CO_3^{2-}	HCO_3^-
1	alc.fft*.=0	0	0	=alc. tot.
2	alc.fft.=alc.tot.	=alc.tot.	0	0
3	2·alc.fft<alc.tot.	0	=2·alc.fft.	=alc.tot.-2·alc.fft.
4	2·alc.fft. = alc.tot.	0	=alc.tot.	0
5	2·alc.fft. > alc.tot.	=2·alc.fft.-alc.tot.	=2·(alc.tot.-alc.fft.)	0

*alc.fft. = alcalinitate față de fenolftaleină; alc.tot. = alcalinitate totală

Întrebări de verificare

1. Ce se înțelege prin metodă absolută de analiză chimică?
2. Ce este gravimetria? Ce instrument important folosește această metodă?
3. În gravimetrie specia chimică se separă (izolează) de regulă prin…
4. Ce condiții trebuie să îndeplinească reacțiile folosite în gravimetrie?
5. Ce exemple de reacții de precipitare cunoașteți?
6. Ce este factorul gravimetric?
7. Cum se calculează factorul gravimetric în cazul determinării ferului sub formă de Fe_2O_3?
8. Care sunt etapele analizei gravimetrice?
9. Care sunt etapele analizei volumetrice?
10. Ce este titrul real și ce este titrul teoretic?
11. Unde se amplasează o balanță analitică în cadrul unui laborator?
12. Care sunt principalele reacții chimice utilizate în volumetrie?
13. Ce sunt etaloanele primare și secundare?
14. Ce se înțelege prin factorul unei soluții și care este scopul utilizării acestuia?
15. Ce tipuri de erori de măsurare a volumelor sunt posibile în volumetrie?

Teoria ghidează, experimentul decide
Izaak M. Kolthoff (1894-1993), Electrochimist american

Metode electrochimice

Generalităţi

O reacţie redox provocată prin efectele curentului electric, ce are loc de regulă prin intermediul unui electrod, într-o incintă numită *celulă electrochimică*, poartă numele de *reacţie electrochimică*. *Electrochimia*, în general, implică folosirea unor reacţii redox ce pot fi realizate pe suprafaţa electrodului cu ajutorul electricităţii sau pot fi utilizate pentru producerea electricităţii pe seama substanţelor de analizat. Aceasta este originea denumirii metodelor de analiză din acest grup. Parametrii *metodelor electrochimice* - bazate pe astfel de reacţii - sunt legaţi de cei ai legii lui Ohm: $U = I \cdot R$ dar totodată şi de parametrii electrolizei. Astfel, metodele electrochimice măsoară una dintre mărimile:

÷ potenţialul de electrod, ε;

÷ intensitatea curentului prin celulă, I;

÷ cantitatea de electricitate scursă prin celulă, $Q = I \cdot t$;

÷ rezistenţa, R (sau conductanţa, 1/R) soluţiei din celulă;

÷ timpul de desfăşurare a procesului de electrod, t.

Oricare ar fi parametrul măsurat, acesta poate fi corelat cu concentraţia speciilor chimice din proba supusă analizei. Studiul acestor corelaţii a condus la clasificarea metodelor de analiză electrochimice în metode: *potenţiometrice* (care măsoară potenţialul unui anumit electrod, ε), *amperometrice* (măsoară I), *coulometrice* (măsoară $Q = I \cdot t$) şi metode *conductometrice* (care măsoară rezistenţa, R, respectiv conductanţa, 1/R). O singură metodă electrochimică măsoară masa depusă la unul din electrozi: *electrogravimetria*, iar altele timpul: *cronoamperometria* şi *cronopotenţiometria*. Unele dintre metode, care măsoară tot curentul însă în condiţii de tensiune variabilă liniar, se denumesc *voltamperometrice*. Un caz particular al acesteia, care măsoară curentul datorat polarizării suprafeţei unui electrod, poartă numele de *polarografie*. O altă tehnică, care măsoară curentul simultan cu modificarea ciclică a potenţialului în timp, poartă numele de *voltametrie ciclică*. Aceasta este cea mai utilizată metodă în ultimul timp, pentru studiul reacţiilor chimice redox în soluţie, fie a proceselor ce au loc pe un anumit electrod.

Toate metodele utilizează în procesul de măsurare doi sau trei *electrozi* scufundaţi în electrolitul celulei, care funcţionează cu sau fără diafragmă. Doi electrozi pot fi identici, de exemplu în conductometrie sau în metodele diferenţiale sau diferiţi, în marea majoritate a metodelor. În acest caz, unul dintre electrozi, cel pe care se produce reacţia, este considerat

electrodul de măsură (sau de lucru), iar celălalt *electrodul de referință*. Se mai utilizează şi un al treilea, *electrodul auxiliar*, doar în câteva metode, dacă este necesar.

Titrările electrochimice utilizează măsurătorile unor parametri electrochimici pentru găsirea punctului de echivalență dintr-o analiză volumetrică. Se foloseşte un parametru furnizat de către electrozii indicatori, sensibili la una din speciile chimice implicate în titrare, fie din *titrant*, fie din *titrat*. Măsurătoarea propriu-zisă este în acest caz volumul - electrozii servind doar pentru indicarea, respectiv găsirea volumului de reactiv ce a reacționat cantitativ cu analitul din probă.

Metode potențiometrice

În cadrul acestor metode, se determină potențialul electric la curent nul (forța electromotoare), E, ce apare spontan, între doi electrozi reversibili, unul fiind *electrod de măsură*, caracterizat prin potențialul acestuia, ε_m şi celălalt *de referință* (ε_r). Aceştia se află scufundați în soluția supusă analizei chimice. Perechea amintită formează un ansamblu denumit *celulă electrochimică* care are potențialul:

$$E = |\varepsilon_m - \varepsilon_r|$$

Uneori se interpun între electrozi şi *diafragme* (nişte corpuri poroase subțiri, udate de electrolit) care împiedică pătrunderea unor ioni nedoriți dintr-o semicelulă într-alta. La aceste metode *curentul ce parcurge celula este practic nul* şi de aceea uneori se specifică acest lucru iar denumirea utilizată este şi *potențiometrie la curent nul*.

Se cunosc două metode principale: *potențiometria directă* şi *titrările potențiometrice*.

Potențiometria directă este mult folosită în practică întrucât semnalul se pretează la o prelucrare automată sau la o înregistrare continuă. În această variantă se înregistrează în prealabil o curbă (sau grafic), în coordonate: potențial de electrod - concentrație a speciei de analizat, şi apoi, într-o a doua etapă, se măsoară potențialul de electrod din soluția supusă analizei. Din curba înregistrată se obține, fie grafic, fie analitic, concentrația necunoscută. Această a doua etapă în care se execută măsurătoarea propriu-zisă, din păcate, nu poate dura mult timp (pentru că suprafața nu este stabilă) fiind necesară, de obicei zilnic, o nouă recalibrare a electrodului.

Titrările potențiometrice, mai utilizate în laboratoare datorită simplității, prețului de cost scăzut, preciziei şi a exactității lor, sunt metode preferate în analize chimice, datorită durabilității electrozilor, a varietății reacțiilor pentru care se pot aplica precum şi datorită posibilităților de automatizare. Acestea sunt, în esență măsurători de volume, momentul citirii volumului de titrant fiind indicat de electrodul de măsură. Celula constă, în ambele cazuri, din paharul (vasul) de titrare plus ansamblul format de cei doi electrozi şi soluție, electrozii fiind legați la un milivoltmetru aşa cum se observă în fig. 1.

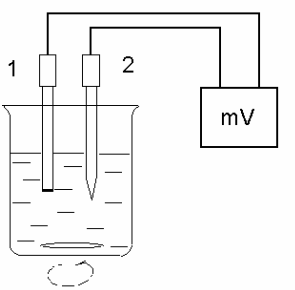


Fig. 1. Celulă de măsură; 1- electrod de măsură, 2- electrod de referință

Reprezentarea electrozilor în cadrul textelor tehnice se face prin prezentarea formulelor chimice ale materialelor electrozilor obișnuite în electrochimie, separate prin bare verticale, care simbolizează, fiecare, interfețele dintre materialele de electrod sau electrod - soluție. În paranteze se prezintă uneori și unii parametri fizici importanți pentru buna funcționare a acestuia. Astfel, pentru un caz general, reprezentarea s-ar putea face în felul următor:

Electrod 1 | *Soluție ionică* | *Electrod 2*

Uneori unul dintre electrozi este separat de soluție printr-o diafragmă. În acest caz interfața este simbolizată prin două bare verticale: ||. Este cazul electrozilor de referință unde prin aceasta se asigură compoziția constantă a soluției în contact cu electrodul, al cărui potențial este menținut la aceeași valoare pe toată durata măsurătorilor. Considerând, de exemplu, celula:

$$M \mid M^{z+} \parallel KCl\ (sat) \mid AgCl \mid Ag$$

în care electrodul indicator, cel din stânga, este un metal care are potențialul sensibil la ionii proprii, M^{z+}, electrodul de referință fiind, în acest caz, așa-numitul *electrod de argint-clorură de argint*, aflat în contact cu o soluție saturată de ioni Cl^- (în conformitate cu denumirea). Acesta, după cum se va arăta în continuare, ar fi, în absența unei soluții saturate de KCl, sensibil la concentrația ionilor clorură, lucru evitat prin realizarea diafragmei și a contactului cu soluția saturată, a cărei concentrație în Cl^- este menținută *automat* constantă.

Titrări potențiometrice

Aceste metode măsoară o specie chimică pe baza unei reprezentări a potențialului unui electrod, în funcție de volumul, V, folosit pentru titrare, pe baza dependenței funcționale $\varepsilon = f(V)$ - denumită și *curbă de titrare* (fig. 2).

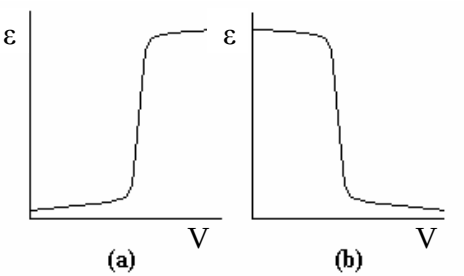


Fig. 2. Curbe de titrare potențiometrică

Obiectivul titrării este evaluarea *volumului de echivalență*. Curba poate fi explicată, în ceea ce privește forma, cu ajutorul *ecuației lui Nernst*:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]}$$

unde ε este potențialul de electrod, ε^0 - potențialul normal standard, R - constanta universală a gazului ideal ($8.310 J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$), T - temperatura absolută, z - numărul de electroni schimbați în reacția ce are loc pe electrod, F - numărul lui Faraday, în coulombi pe echivalent gram, [Ox] - concentrația (activitatea) formei oxidate (de exemplu în $mol \cdot L^{-1}$), [Red] - concentrația (activitatea) formei reduse (în aceleaşi unități).

Forma curbei se explică, inițial, prin prezența în exces a uneia din cele două forme, de exemplu [Ox], în iar final, prin abundența celeilalte forme, [Red], apărută prin deplasarea echilibrului reversibil al *reacției de electrod*:

$$Ox + ze^- \rightleftharpoons Red.$$

Graficul obținut experimental este în general o curbă logaritmică şi are o formă de S, redat în figura 2 (a) sau (b), forma depinzând de natura reactivului de titrare. În cazul (a), de exemplu, reactivul de titrare este un oxidant. Se lucrează la *curent nul*, ceea ce înseamnă în limbaj de specialitate la un curent foarte mic, apropiat de zero: 10^{-9}-10^{-12}A. Se măsoară potențialul la fiecare adaos de reactiv. Determinarea potențialului se face cu milivoltmetre electronice (cu rezistența internă sau impedanță mare), ceea ce asigură un curent mic, sau cu metode prin compensare (la curent practic nul al punții Wheatstone). În aceste metode procesul de electrod nu modifică concentrația speciei chimice din soluție, deşi o *simte*. Diferențiala curbei de titrare în S este o curbă cu maxim, ce permite mai precis găsirea echivalenței - cu condiția ca creşterile de volum să fie mici (altfel maximul nu apare pe curbă). Electrozii folosiți pot fi, în principiu, oricare din electrozii sensibili la concentrație care vor fi reamintiți, pe scurt, în cele ce urmează sau alți electrozi derivați din aceştia.

Tipuri de electrozi

Electrozii de speța 1-a: Metal, ion metalic sau $M|M^{z+}$; pe care are loc echilibrul de electrod general: $M^{z+} + ze^- \rightleftharpoons M$. Cea mai bună reproductibilitate şi stabilitate o are electrodul de argint. Toți vor avea potențialul dependent de concentrația ionilor din soluția cu care este în contact direct, M^{z+} - lucru uşor de înțeles prin înlocuirea concentrațiilor speciilor participante în ecuația lui Nernst. În general:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{zF} \ln \left[M^{z+} \right]$$

Electrozii de gaz fac parte, în principiu tot din electrozii de speța I-a. Între aceştia un loc cu totul aparte îl ocupă *electrodul de hidrogen*: $(Pt)H_2 \mid H^+$, (redat în fig. 3), cu echilibrul pe electrod:

$$H^+_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons 1/2\ H_{2(g)}\ (1\ atm\ ),$$

în acest caz hidrogenul molecular este dizolvat fizic într-un metal nobil Pt (sau Pd). Rolul platinei este dublu, de conductor inert şi de catalizator. Electrodul propriu-zis este o placă din Pt (sau Pd) de 0.4-0.5mm, cu suprafaţa de $1cm^2$ legată printr-un fir tot din Pt (Pd) fixat într-un tub de sticlă. Pe placă se depune electrolitic Pt (platină poroasă - neagră) din soluţia de acid hexacloroplatinic, $H_2[PtCl_6]$, timp de 1-2 minute, la o densitate de curent de 50-100$mA \cdot cm^{-2}$.

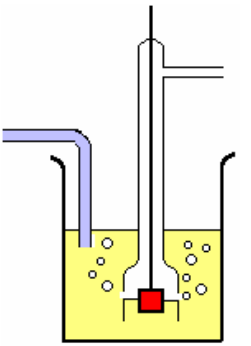


Fig. 3. Electrodul de hidrogen - etalonul scării potenţialelor normale

Ecuaţia potenţialului de electrod se poate exprima:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{\left[H^+\right]}{p_{H_2}^{1/2}}$$

Dar, cum în situaţia considerată - standard - prin definiţie se poate scrie:

activitatea $a_{H^+} = 1\ mol \cdot L^{-1}$ şi presiunea $p_{H2} = 1\ atm$,

în acest caz potenţialul de electrod devine:

$$\varepsilon = \varepsilon^0$$

Cum ε^0 se consideră 0.000 volţi, printr-o convenţie făcută internaţional, menţinându-se condiţiile standard [69], măsurătorile faţă de acest electrod *permit măsurarea potenţialului normal de electrod, ε^0, direct*. Dacă se păstrează constantă presiunea hidrogenului, electrodul poate fi utilizat şi ca electrod de pH. De altfel, în caz de litigiu între laboratoare, acesta este electrodul cu care se efectuează expertiza. Alţi electrozi de gaz de mai mică importanţă sunt electrozii de oxigen, de clor etc. în care gazul respectiv se barbotează peste o placă similară de platină.

Electrozii de speţa a 2-a sunt formaţi prin asocierea a două straturi: metal/sare greu solubilă a metalului respectiv, iar ultimul este în contact cu o soluţie a unui anion al sării greu solubile. Cei mai utilizaţi sunt electrozii:

[69] *condiţii standard* - T = 298K, activitatea ionilor activi 1 echiv./L, respectiv presiunea parţială a speciilor gazoase 1 atm.

÷ *De argint/clorură de argint*, cu formula electrochimică:

$$Ag\ |AgCl\ |\ Cl^-_{(aq)}$$

având reacția de echilibru pe electrod:

$$Ag_{(s)} + Cl^-_{(aq)} \rightleftharpoons AgCl_{(s)} + e^-$$

şi potențialul de electrod:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{zF}\ln\{1/[Cl^-]\}$$

Se observă că potențialul depinde logaritmic de inversa concentrației ionului clorură.

÷ *De calomel*, care este format din contactul: mercur - clorură mercuroasă şi care are reprezentarea electrochimică:

$$Hg\ |\ Hg_2Cl_2\ |\ Cl^-$$

Este tot mai puțin folosit datorită problemelor de legate de poluarea mediului. Evident că ambii electrozi sunt sensibili la ionii Cl^-. În soluție la o concentrație constantă a ionului clorură, potențialul acestora este, la temperatura camerei, practic o constantă.

Electrozii de speța a 3-a sunt formați dintr-un metal, pe care se află depuse două combinații greu solubile, dispuse în straturi subțiri succesive, în contact una cu alta (dintre care în contact cu metalul este o combinație a ionului metalului-suport). Astfel de electrozi sunt sensibili şi funcționează reversibil la cationul unui alt metal. De exemplu, un astfel de electrod este redat de lanțul:

$$Pb\ |\ PbC_2O_{4(s)}\ |\ CaC_2O_{4(s)}\ |\ Ca^{2+}_{(aq)}$$

pe care are loc echilibrul ionic:

$$Pb_{(s)} + CaC_2O_{4(s)} \rightleftharpoons PbC_2O_{4(s)} + Ca^{2+}_{(aq)} + 2e^-$$

Fazele solide (cele notate $_{(s)}$) dispărând din expresia potențialului de electrod, din considerente legate de teoria echilibrului chimic eterogen, se obține pentru potențialul de electrod al plumbului:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{zF}\ln [Ca^{2+}]$$

Deci electrodul de speța 3-a amintit este sensibil la ionii de calciu.

Electrozii redox sunt electrozi compuşi din metale nobile scufundați în soluția a două specii chimice, aflate într-un echilibru reversibil una cu cealaltă, o formă fiind oxidată (Ox) iar cealaltă redusă (Red). Trebuie accentuat că *ambele specii (Ox şi Red) sunt solubile* spre deosebire de cazurile precedente. O schemă generală de reprezentare a acestor electrozi este:

$$Pt\ |\ Ox;\ Red$$

sau mai concret, dacă considerăm un electrod întâlnit curent în practica de laborator, anume electrodul redox Fe(II)/ Fe(III) acesta se reprezintă:

$$Pt \mid Fe^{2+}; Fe^{3+}$$

Potențialul de electrod se scrie fără nici o dificultate aplicând ecuația lui Nernst:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{zF}\ln\{[Ox]/[Red]\} = \varepsilon^0 + \frac{RT}{zF}\ln\{[Fe^{3+}]/[Fe^{2+}]\}$$

Electrodul de referință utilizat în măsurătorile celulelor formate cu toți electrozii amintiți este electrodul de argint - clorură de argint. Rolul metalului (Pt) este doar acela de conductor inert.

Electrozii membrana ion selectivi. Un tip de electrod important şi mult întrebuințat în tehnica zilelor noastre, din această categorie, este *electrodul de sticlă*. Azi, în laboratoarele de analize, electrodul de hidrogen este practic complet înlocuit de acesta în măsurătorile de pH (vezi fig. 4). Utilizarea sa se bazează pe faptul că potențialul existent la interfața membrană - soluție este:

$$H_{(1)}^{+} \rightleftharpoons H_{(2)}^{+}$$

Simbolurile (1) şi (2) reprezintă, respectiv: (1)- specia H^+ de pe o parte a membranei (interiorul electrodului) iar (2)- aceeaşi specie în soluția de determinat. Expresia potențialului de membrană este cea a unei pile de concentrație:

$$\varepsilon = \text{const.} + \frac{RT}{F}\ln\frac{a_{H^+}^{(2)}}{a_{H^+}^{(1)}}$$

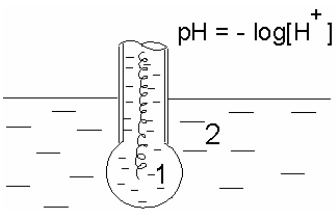


Fig. 4. Electrodul de sticlă

Considerându-se activitatea $a_{H^+}^{(2)}$ (cea din interiorul electrodului de sticlă) constantă, se poate scrie expresia finală a potențialului electrodului de sticlă:

$$\varepsilon_{st} = \varepsilon_{st}^0 + \frac{RT}{F}\ln a_{H^+}^{(2)}$$

unde primul termen - ε_{st}^0 - include toate constantele ce mai intervin în practică. O ecuație similară se obține chiar dacă electrozii interni şi externi sunt diferiți, caz mai rar întâlnit în practică. Acest electrod de sticlă prezintă unele neajunsuri şi anume în medii puternic acide, sau puternic bazice, apar abateri mari de la ecuația amintită. În aceste cazuri se recurge la alte tipuri de electrozi, sensibili tot la ionul H^+, cum ar fi electrodul de antimoniu (stibiu) -

$Sb|Sb_2O_3|H^+$ (un electrod de speța a 2-a) sau electrodul de wolfram (analog ca principiu de funcționare cu primul, doar oxidul care ia naştere pe W fiind WO_3).

Alți electrozi membrană ion selectivi. Alături de sticlă (membrana din electrodul cu acelaşi nume) există numeroase alte *membrane*. Orice fază neapoasă, prezentând conducție ionică, interpusă între 2 soluții apoase constituie o membrană. Fețele membranei trebuie sa aibă un rol de schimbător de ioni. Schematic, un electrod membrană se reprezintă conform schemei din fig. 5.

Electrod de referință intern	Soluție apoasă a ionului (const.)	Membrană (conductor ionic)	Soluție apoasă a ionului (măsurat)	Electrod de referință extern

Fig. 5. Structura unui electrod membrană ion - selectiv în celula de măsură

Asemănător cu electrodul de sticlă sau considerând o pilă de concentrație, potențialul de membrană are, în general, expresia:

$$\varepsilon = \varepsilon^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{a^2}{a^1}$$

şi conține suma tuturor potențialelor de la interfețele lanțului până la porțiunile 2 şi 1. Sunt comercializați numeroşi alți electrozi selectivi pentru anumiți ioni ca: Na^+, K^+, NH^+, Cl^-, S^{2-} etc. Cele mai bune rezultate le dau, deocamdată, electrodul monocristal din LaF_3 pentru ionul F^-, electrozii din pulbere presată din Ag_2S, pentru Ag^+ respectiv S^{2-} şi electrozii din precipitate impregnate în cauciuc siliconic, sensibili la ionii din precipitat. Un caz particular de electrozi membrană sunt *electrozii cu membrană lichidă*. Lichidul este un *schimbător de ioni lichid*, adică o soluție a unui electrolit organic, cu moleculă mare, într-un solvent organic. Acesta se impregnează într-un corp poros - inert şi din cauza conducției slabe nu poate avea o grosime prea mare. Membrana este plasată, în construcția electrodului între soluția de analizat şi soluția apoasă internă, cu compoziție fixă, în care se găseşte introdus un electrod de referință oarecare, care preia semnalul sau chiar un contact direct (fig. 6).

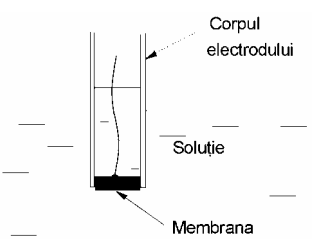


Fig. 6. Schema unui electrod membrană ion selectiv

Dacă între electrozii de lucru şi de referinţă există un curent impus, nu foarte mare (de câţiva microamperi), are loc o modificare a concentraţiei speciei active, din cauza electrolizei. Titrarea se numeşte *cu electrod polarizat.* În fig. 7-stânga, se prezintă curbele de titrare pentru un curent +i , i = 0 şi -i, toate obţinute cu acelaşi electrod. Cele trei curbe nu diferă în mod esenţial. Se observă că saltul se produce înainte de echivalenţă, pentru curba trasată în condiţiile -i şi după acesta la cea cu curentul opus: +i.

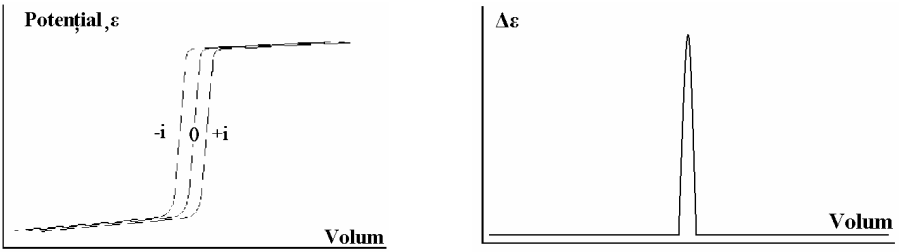


Fig. 7. Curbe de titrare obţinute pe acelaşi electrod la un curent impus

Folosindu-se doi electrozi indicatori identici dar polarizaţi în sens contrar (unul parcurs de un curent +i şi altul de unul -i) prin reprezentarea diferenţei de potenţial Δε (fig. 7-dreapta) apărute aceşti electrozi, în funcţie de volumul de titrant V, se obţine o curbă de titrare al cărui vârf indică punctul de echivalenţă. Metoda se numeşte *titrare cu doi electrozi polarizaţi,* dar aceasta are un singur dezavantaj, anume necesită înregistrarea semnalului în mod continuu deoarece, fiind foarte ascuţit, vârful se poate pierde.

Serii electrochimice

Una din consecinţele datelor prezentate în tabelul 8.1 este posibilitatea ordonării elementelor în funcţie de potenţialul lor de reducere standard. Dacă aplicăm o astfel de ordonare pentru metale, de la starea de oxidare uzuală a acestora la starea neutră electric se obţine seria activităţii electrochimice a metalelor. O astfel de serie este redată în fig. 8.8.

Au	Pt	Ag	Hg	Cu	(H)	Pb	Sn	Ni	Fe	Zn	Cr	Al	Mg	Na	Ca	K
-	→				0	→										+

Fig. 8. Seria activităţii electrochimice pentru câteva metale uzuale

De exemplu, $E^0(Zn^{2+},Zn) = -0.76V < +0.34 = E^0(Cu^{2+},Cu)$ deci Zn are o tendinţă termodinamică de a reduce Cu^{2+} şi este de aşteptat ca reacţia de mai jos să aibă loc:

$$Zn_{(s)} + CuSO_{4(aq)} \rightarrow ZnSO_{4(aq)} + Cu_{(s)}$$

Măsura cantitativă a desfăşurării reacţiei este dată de constanta de echilibru K. Când reacţia a atins echilibrul, K = Q, unde Q reprezintă raportul de echilibru adică raportul obţinut prin înlocuirea în expresia K a datelor concrete (determinate practic) considerând pila

galvanică care funcționează pe baza reacției. Aceasta la echilibru are diferența de potențial E = 0 între electrozi.

Înlocuind în ecuația lui Nernst K = Q, E = 0, se obține:

$$\ln(K) = \frac{n \cdot F \cdot E^0}{R \cdot T}$$

Relația de mai sus permite să se calculeze contantele de echilibru din potențialele standard. De exemplu potențialul standard se obține (pe baza tabelului potențialelor standard prezentat în anexe) ca fiind $E = E^0(Cu^{2+},Cu) - E^0(Zn^{2+},Zn) = 1.1$ V, de unde $\ln(K) = 85.6$, $K = 1.5 \cdot 10^{37} >> 1$ şi reacția are loc practic complet.

Conductometrie

Conducția curentului prin soluții

Metoda se bazează pe fenomenul de conducție a curentului electric manifestat de electroliți (care sunt conductori de ordinul doi) şi pe faptul că fiecare ion contribuie în mod independent la conducția totală (analog cu două rezistențe în paralel). Ca şi în cazul metalelor, conducția respectă întru totul legea lui Ohm conform căreia intensitatea curentului, I, este proporțională cu potențialul U (respectiv cu forța electromotoare, FEM, notată de regulă cu E) şi invers proporțională cu rezistența, R. Analitic legea se scrie:

$$U = I \cdot R$$

Rezistența unui conductor de secțiune uniformă variază direct proporțional cu lungimea sa, *l* şi invers proporțional cu secțiunea sa, *s* aşa încât:

$$R = \rho \cdot l/s$$

unde ρ este o constantă numită *rezistivitate* (sau *rezistență specifică*). Inversul rezistenței se numeşte conductanță, 1/R iar inversul rezistivității se numeşte *conductivitate* şi se notează cu simbolul λ (lambda grecesc). Ecuația precedentă se poate scrie: $R = (1/\lambda) \cdot l/s$ de unde:

$$\lambda = (1/R) \cdot l/s$$

Dacă R se exprimă în Ω , *l* în m şi *s* în m^2, unitatea pentru conductivitate devine $\Omega^{-1}m^{-1}$ sau (pentru că Ω^{-1} = S, de la Siemens) unitatea de conductivitate este $S \cdot m^{-1}$ (siemens per metru). Se mai folosesc adesea şi unități derivate din aceasta ca $S \cdot cm^{-1}$ sau $dS \cdot m^{-1}$. Se pune problema: *care ion sau care substanță conduce cel mai bine curentul?* Kohlrausch (1876) a găsit potrivită pentru exprimarea calității de a conduce curentul electric în soluții mărimea *conductivitate echivalentă*, simbolizată Λ (lambda mare - în l. greacă veche). Astfel, conform definiției:

$$\Lambda = 1000 \cdot \lambda / C_n$$

unde cu C_n s-a notat concentrația normală a soluției. S-a constatat că această mărime depinde de natura, dar şi de concentrația soluției, crescând cu diluția. S-a adoptat de aceea conductivitatea echivalentă la diluție infinită, simbolizată Λ^{∞}, care nu mai depinde de concentrație şi permite evaluarea sau compararea contribuției independente, la conducția totală, a fiecărui ion.

În tabelul 1 se prezintă comparativ valorile conductivităților echivalente ale câtorva cationi, notate Λ_+^{∞} , respectiv a câtorva anioni, Λ_-^{∞}, la diluție infinită. *Se pot remarca conductivitățile ridicate ale ionilor HO^- respectiv H^+*, comparativ cu ale celorlalți ioni monovalenți.

Tabelul 1. Conductivităţi echivalente la diluţie infinită pentru câţiva ioni frecvent întâlniţi

Cationul	Λ_+^∞ ($S \cdot cm^{-1}$)	Anionul	Λ_-^∞ ($S \cdot cm^{-1}$)
H^+	348.8	OH^-	198.6
K^+	73.5	Br^-	78.1
NH_4^+	73.6	I^-	76.8
Ag^+	61.8	Cl^-	76.4
Na^+	50.1	NO_3^-	71.5
Ba^{2+}	127.3	HCO_3^-	44.5
Mg^{2+}	106.1	SO_4^{2-}	160.0

Măsurarea conductivităţii

Măsurarea rezistenţei (şi implicit a conductivităţii) se face prin măsurători electrice. Iniţial s-a lucrat cu curent continuu, dar tot Kohlrausch (1876) a propus utilizarea în acest scop a curentului alternativ, pentru că cel continuu ducea la o abatere mai mare a rezultatelor (făcând metoda inexactă) din cauza fenomenelor de la electrozi ce modificau curentul (fenomene denumite polarizări).

Primele măsurători s-au realizat cu montaje în punte Wheatstone (vezi fig. 9), unde cu λ s-a notat celula a cărei conductanţă (sau rezistenţă) urmează a se determina, iar R este o rezistenţă variabilă într-un circuit de curent alternativ. Azi se lucrează cu surse la care frecvenţa inversării sensului curentului este mare (de circa 1000 - 2000 de ori pe secundă) astfel încât polarizarea practic dispare, iar măsurarea rezistenţei se face tot prin metoda compensaţiei.

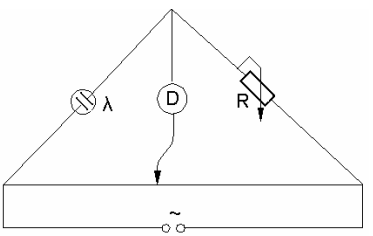


Fig. 9. Montaj în punte Wheatstone pentru măsurarea conductanţelor

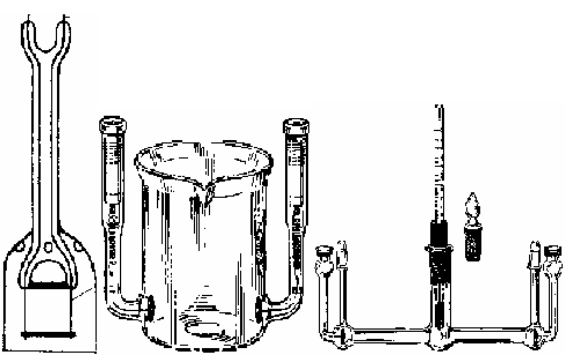


Fig. 10. Câteva tipuri comune de celule utilizate în conductometrie

Celulele utilizate sunt de forme diferite depinzând de concentraţii. În fig. 10 se prezintă câteva celule simple notate: utilă în laborator (stânga), utilizabilă industrial (mijloc) şi pentru cazul unor electroliţi tari (dreapta), concentraţi permiţând evitarea efectelor electrostatice (ale capacităţii ce ia naştere). Electrozii sunt confecţionaţi din platină acoperită

cu negru de platină, depusă electrolitic, dar pot fi şi din argint sau oţel inoxidabil pentru cazuri mai puţin pretenţioase.

Se foloseşte, pentru diluţie, apă pură, numită apă de conductibilitate, realizată prin redistilarea apei în aparate de sticlă termorezistentă sau, mai bine, din cuarţ. O alternativă pentru obţinerea acestei ape este trecerea apei distilate peste două coloane cu răşini schimbătoare de ioni (una în forma R-H alta în forma R-OH). La 25°C, conductivităţile apei sunt următoarele:

÷ pentru apă absolut pură, $\lambda = 5.8 \cdot 10^{-8}$ S·cm^{-1}

÷ pentru apă de conductibilitate, $\lambda = 1...10 \cdot 10^{-7}$ S·cm^{-1}

÷ pentru apă distilată, $\lambda = 1...10 \cdot 10^{-6}$ S·cm^{-1}

În practică nu se evaluează R, *l* şi *s*, pentru a se calcula λ ci se practică o etalonare a celulei cu o soluţie de conductibilitate cunoscută precis. Se înţelege că pentru o celulă dată raportul *l/s* este constant şi este cunoscut sub denumirea de *constanta celulei* - notată cu K. De aici, λ = K/R.

Etalonarea se face de regulă cu soluţii etalon de clorură de potasiu, KCl, a cărei conductivitate este cunoscută exact şi acceptată unanim. De exemplu, măsurând rezistenţa unei celule care conţine soluţie de KCl 0.1N, se constată că aceasta are 3550Ω. Conductivitatea soluţiei KCl este cunoscută, fiind 0.01288 Ω^{-1}·cm^{-1}, la 25°C. O soluţie de conductivitate necunoscută introdusă în aceeaşi celulă dă o rezistenţă de 4570Ω. Care este conductivitatea λ a ultimei soluţii? Rezolvare:

Pentru KCl avem: R = 3550Ω; λ=0.01288 Ω^{-1}·cm^{-1} şi de aici constanta celulei, K este: K = λ·R = 0.01286·3550 = 45.65 cm^{-1}. Pentru electrolitul necunoscut:

$$\lambda = \frac{K}{R} = \frac{45.65}{4570} = 0.009989 \Omega^{-1} cm^{-1}$$

De exemplu, în tabelul 2 se prezintă conductivităţile unor soluţii de KCl. Se poate observa că acestea depind mult de temperatură. De aceea, o condiţie esenţială în vederea unor determinări de calitate este termostatarea celulei.

Tabelul 2. Conductivităţile câtorva soluţii de KCl

T °C	Conductivităţi λ în S·cm^{-1}		
	KCl 1N	KCl 0,1N	KCl 0,01N
15	0,09252	0,01048	0,001147
20	0,10207	0,01167	0,001278
25	0,11180	0,01288	0,001413

Dintre aplicaţiile practice din laboratoarele de analize amintim determinarea purităţii apei. Nu este vorba numai de urmărirea purităţii apei râurilor în ceea ce priveşte poluarea

care, de regulă, duce la creşterea conductanţei, ci de a se aprecia calitatea apei distilate, respectiv a celei deionizate, necesare în unele procese. Alte aplicaţii sunt legate de băile industriale sau diverse tipuri de galvanizare, decapare sau spălare, verificându-se fie modificările majore de concentraţii, fie perfecţiunea spălării. O aplicaţie aparte, asupra căreia se va reveni, este aceea de detector conductometric în analiza prin cromatografie ionică. În fine, cea mai cunoscută aplicaţie este titrarea conductometrică.

Titrarea conductometrică

Dacă într-o soluţie de acid tare se adaugă treptat o bază tare (de ex. NaOH) conductanţa soluţiei se modifică, la început scăzând, din cauza antrenării ionilor H^+ proveniţi din acid într-o combinaţie puţin disociată - apa. Reacţia:

$$H_3O^+ + HO^- \rightleftharpoons 2H_2O$$

continuă până când neutralizarea este completă. Apoi, continuând adăugarea de bază, conductanţa soluţiei creşte din nou din cauză că excesul de ioni OH^- are o contribuţie ridicată la conductivitate. Forma curbei: conductanţă - volum de titrant, aşa-numita curbă de titrare conductometrică, are forma (1) din fig. 11. Minimul corespunde punctului de echivalenţă, adică sfârşitului neutralizării. Deci,

principala aplicaţie a titrării conductometrice este titrarea acizilor tari cu baze tari şi invers

Se poate observa că titrarea continuă prin determinarea câtorva puncte şi după punctul de echivalenţă iar ulterior se trasează dreptele şi, în final, din intersecţia acestora se obţine punctul de echivalenţă.

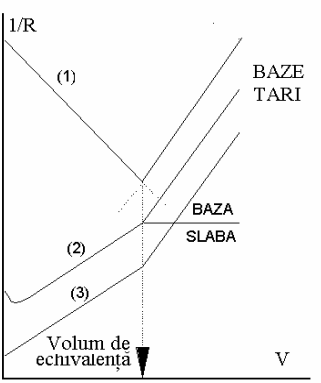


Fig. 11. Curbe de titrare conductometrică în cazul unor reacţii de neutralizare

Titrantul se preferă să fie de circa 10 ori mai concentrat decât titratul pentru ca variaţia de volum să fie neglijabilă şi curbele să fie de la început nişte drepte. Dacă nu se poate realiza acest lucru este necesară o corecţie a conductanţei ţinându-se cont de creşterea

de volum. Când se titrează acizi de tărie moderată ca acizii acetic sau oxalic, variația conductanței urmează curba (2) din figura anterioară. La început conductanța este joasă. Apoi are loc o scădere uşoară după care aceasta creşte paralel cu (1). Dacă acidul este foarte slab, cum este cazul acidului boric sau a fenolului, nu se mai poate observa porțiunea inițială de scădere a conductanței, curba de titrare fiind asemănătoare cu (3) din fig. 11. Dacă însă titrarea se execută cu o bază slabă, uneori intersecția este mai netă din cauză că după echivalență baza nu mai contribuie practic la conductanță, obținându-se o dreaptă orizontală.

Metoda se poate aplica şi pentru săruri ca acetatul de sodiu cu un acid tare din motive lesne de înțeles - ionul acetat este de fapt o bază. Prin conductometrie se mai pot indica şi titrări bazate pe reacții de precipitare (de ex. NaCl cu $AgNO_3$). În acest caz, la început se obține o dreaptă orizontală deoarece conductanța precipitatului AgCl este practic nulă, iar ionul clorură din soluție se înlocuieşte, pe parcursul titrării, cu ionul azotat care practic conduce la fel. La sfârşit conductanța va creşte pentru că ambii ioni din excesul de $AgNO_3$ contribuie la conducție.

Printre avantajele titrării conductometrice trebuie amintit faptul că se pot utiliza soluții diluate, amestecuri de acizi şi baze şi că se pot chiar analiza soluții colorate. Nu este necesară măsurarea conductivității (şi nici etalonarea celulei) ci se măsoară rezistența care se reprezintă grafic în funcție de volumul de titrare. *Totuşi pentru că reacțiile sunt exoterme şi măsurătorile sunt sensibile la variațiile de temperatură se recomandă termostatarea vasului de titrare.*

Coulometria

Se cunosc două categorii de metode ce intră în această clasă şi anume *coulometria la potenţial controlat* (denumită şi coulometrie potenţiostatică) şi *coulometria la curent controlat* (sau amperostatică). Ambele metode au la bază *legea lui Faraday* şi ambele necesită un circuit cu trei electrozi, redat schematic în fig. 12, adică cu un electrod de lucru (EL), un electrod auxiliar (EA) şi un electrod de referinţă (ER) - de regulă un electrod de argint/clorură de argint.

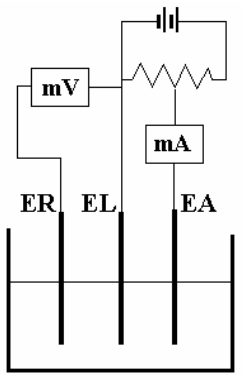


Fig. 12. Celulă cu trei electrozi utilă în coulometrie

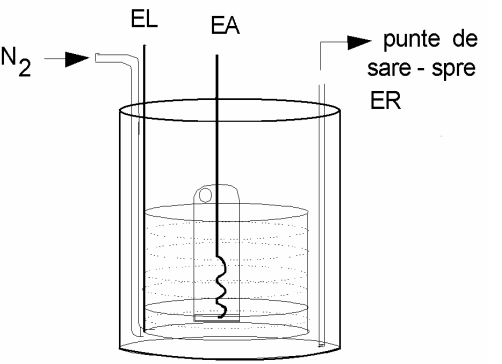


Fig. 13. Schiţa unei celule în coulometrie

Metodele se utilizează atunci când reacţia necesară unei analize se petrece cu un randament de curent 100 %. De aceea, la analize de probe cu compoziţia total necunoscută, metoda trebuie utilizată cu rezerve, întrucât se poate suprapune peste reacţia de interes şi una neaşteptată.

Electrodul de lucru este în mod obişnuit o sită cilindrică de platină. În această variantă electrodul secundar trebuie plasat într-un compartiment separat de restul celulei, prin intermediul unei frite poroase tot din sticlă. Soluţia trebuie deoxigenată, de regulă prin barbotare de N_2 (v. fig. 13), mai ales atunci când procesul chimic pe care se bazează determinarea este unul de reducere. De asemenea, soluţia trebuie agitată.

Coulometria la potenţial controlat (potenţiostatică)

Potenţialul electrodului de lucru se alege corespunzător platoului curbei polarografice, adică cel necesar descărcării doar a speciei de analizat. Curentul iniţial este de domeniul microamperilor 5µA-100mA, iar curentul scade în timp. Se înregistrează curentul în funcţie de timp şi acesta are în general aspectul din fig. 14. Intensitatea la momentul t, I_t, este dată de ecuaţia:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-pt}$$

unde I_0 este curentul inițial; p - factorul de transfer, p = m·S/V, S - suprafața electrodului de lucru (în m^2), V - volumul de soluție (în m^3) iar m - coeficientul de transfer masic (în $m \cdot s^{-1}$).

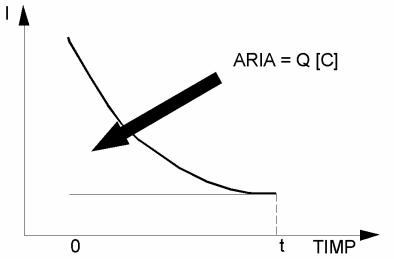


Fig. 14. Aspectul semnalului în coulometria la potențial controlat

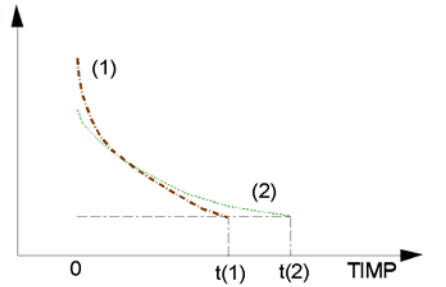


Fig. 15. Ilustrarea micşorării duratei analizei

O celulă bine aleasă maximizează valoarea p prin utilizarea unui electrod cu o arie mare, a unei celule cu volum mic şi cu un coeficient de transfer masic ridicat obținut printr-o agitare eficientă a soluției. Cu valori p maxime se obțin durate de analiză minime, la aceeaşi arie de sub curbe (fig. 15). Calculul propriu-zis constă în aplicarea legii lui Faraday şi anume:

$$Nr.moli = Q/(z \cdot F)$$

unde Q = I·t reprezintă numărul de Coulombi trecuți iar z numărul de electroni schimbați în procesul de electrod. Q este aria de sub curba I = f(t) care este proporțională cu concentrația speciei de analizat. De regulă coulometrele moderne execută şi integrarea ariei de sub curbă. Măsurătoarea se opreşte când $I < 0{,}1 \cdot I_0$ unde I_0 este curentul rezidual, adică curentul măsurat în absența analitului. Analiza sistemelor multicomponente se poate realiza când $E_{1/2} >$ 200mV, unde $E_{1/2}$ este potențialul de semiundă. Se schimbă pur şi simplu potențialul electrodului la noua valoare şi se începe o nouă măsurătoare. În principiu:

metoda nu are nevoie de etalon primar fiind o metodă absolută, una dintre puținele metode cunoscute până în prezent în afara metodelor chimice - gravimetria şi volumetria;
în condiții optime, limita de detecție poate fi şi mai coborâtă - până la 10-8 mol/l

Coulometria la curent controlat (amperostatică)

Varianta aceasta se utilizează în titrarea coulometrică unde reactivul se generează prin electroliză dintr-un precursor prezent în exces în soluție împreună cu substanța de analizat.

De exemplu, o soluție de iodură, I^- este un precursor pentru iod, (I_2) utilizat adeseori pentru titrări iodometrice iar apa oxigenată, H_2O_2 un precursor pentru ionul OH^- din titrările acido-bazice. Se utilizează un electrolit de bază, iar oxigenul este îndepărtat prin barbotare de azot, mai ales dacă se face apel la o reacție de reducere. Se utilizează în acest caz electrozi de dimensiuni reduse din platină atât pentru EL cât şi pentru EA iar EA se plasează într-o incintă separată, printr-o frită, de soluția de analizat. Se aplică un curent fix un timp cunoscut în soluții agitate până la virajul unui indicator. Curentul este din domeniul 10µA-100mA.

Metode electrolitice (voltametrice)

Spre deosebire de metodele potențiometrice la care energia liberă conținută în sisteme generează semnalul analitic, metodele electrolitice reprezintă un domeniu al electrochimiei analitice în care o sursă externă de energie este utilizată pentru a genera o reacție electrochimică care nu ar avea loc spontan, niciodată. Forța motrice aplicată din exterior poate fi uneori un curent, alteori un potențial. Când se aplică un potențial, semnalul analitic măsurat este un curent. Din contră când se aplică un curent, semnalul valorificat analitic este o tensiune. Tehnicile prin care se aplică un potențial au fost denumite *metode voltametrice* iar cele în care se aplică un curent au fost denumite *metode galvanostatice.*

Introducere în polarografie

Polarografia este o metodă electrochimică - voltametrică de analiză, bazată pe obținerea unor curbe de variație a curentului (continuu) în funcție de tensiunea aplicată pe doi electrozi, unul polarizabil iar celălalt nepolarizabil. Trebuie menționat că electrodul de lucru este în mod obișnuit din mercur, având o suprafață extrem de mică, denumit *electrod picurător (picător) de mercur*. Celălalt electrod (*nepolarizabil*) este alcătuit fie din mercurul aflat pe fundul celulei (având o suprafață mult mai mare), fie este un electrod de referință (din calomel). Pentru asigurarea conducției necesare, se adaugă și o așa-numită *soluție de bază* care este necesar să dea o concentrație ionică de cel puțin 50 de ori mai mare decât a soluției de analizat. În această tehnică, răspunsul care se măsoară pe electrodul de lucru este rezultat dintr-o combinație a transportului de masă, atât prin difuzie, cât și prin convecție. Prin variația continuă și cu viteză constantă a potențialului dintre cei doi electrozi, de la un potențial de start până la unul final (adică asigurând o *variație liniară*), ionii din soluție vor migra spre electrodul având semnul contrar, iar pe suprafața electrodului de mercur speciile cu potențialul de descărcare mai mic decât cel aplicat între cei doi electrozi se vor descărca (adică apar așanumitele *specii electroactive*). De aceea, la un moment dat, pe curbele I = f(U) se va observa un salt de intensitate, în formă de S, care va fi direct proporțional cu concentrația substanței de analizat. Curbele se mai numesc curbe polarografice iar acest salt se denumește *undă polarografică* având aspectul din fig. 16.

Curba se obține cu un aparat denumit *polarograf* (fig. 17) ce constă din următoarele părți principale:

÷ sursă de potențial variabil pe domeniul +0.4…-2.5V;
÷ un microampermetru înregistrator sensibil: 10^{-4}-10^{-9}A;
÷ electrodul picător (o capilară din sticlă cu diametru 0.05-0.1mm) și un rezervor de mercur la care se leagă capilara prin intermediul unui tub flexibil și transparent (fig. 18);

÷ electrodul de referință (cu suprafață mare).

Înregistrarea polarogramei duce de regulă la mai multe *unde* caracterizate fiecare printr-un *potențial de semiundă* $E_{1/2}$ - o caracteristică calitativă legată direct de valoarea potențialului standard a reacției redox ce are loc pe electrodul picurător și o *înălțime a undei* (v. fig. 16) - o caracteristică cantitativă legată direct de concentrația speciei de analizat. După cum se poate remarca din fig. 16, diagrama curent - potențial tipică polarografiei, prezintă și niște oscilații corespunzătoare picăturilor de mercur care picură dintr-o capilară. Unind maximele curenților corespunzători fiecăreia dintre picături, rezultă o curbă tot în formă de S. Curentul limită, atins în porțiunea superioară a curbei amintite, a fost denumit și *curent de difuziune*, din cauză că aici difuziunea are un rol principal la fluxul de material electroactiv în acele puncte ale vieții picăturilor.

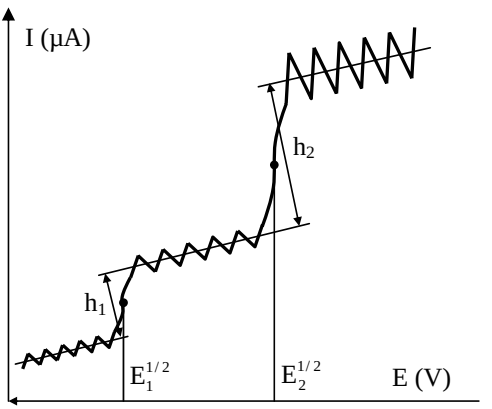


Fig. 16. Una polarografică

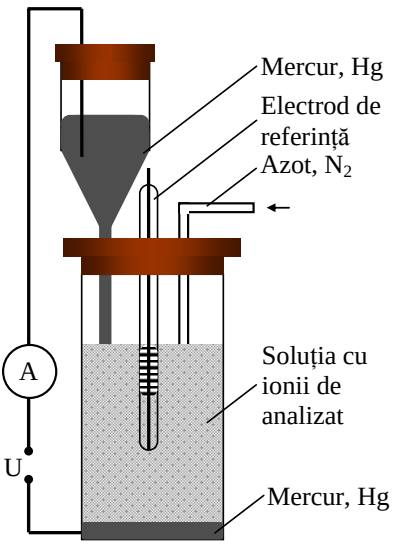


Fig. 17. Schema unui polarograf

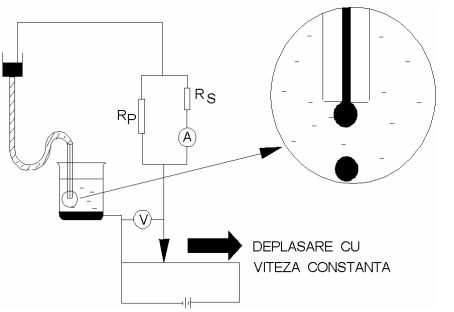


Fig. 18. Circuitul exterior al unui polarograf simplu

Pe schema din fig. 18 se observă sursa de potențial variabil redată prin cursorul C, ce se deplasează pe firul AB, ampermetrul A și rezistențele în serie, R_S, respectiv în paralel, R_P,

ce servesc aducerii în scară a curentului precum şi cei doi electrozi, cel *picător*, de pe care se desprind periodic picături, şi cel *nepolarizabil*, format din mercurul de pe fundul paharului, legate prin contacte în circuit.

Factorii ce determină înălțimea undelor

Saltul de intensitate a curentului este modelat matematic prin ecuația lui Ilcovič şi anume:

$$i_d = 0.627zFD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}C$$

unde z este numărul de electroni schimbați în procesul de electrod, F - numărul lui Faraday, 96496 C, D - coeficientul de difuziune în $cm^2 \cdot s^{-1}$, m - viteza de picurare în $mg \cdot s^{-1}$, t - perioada de picurare în s, C - concentrația substanței în $mol \cdot L^{-1}$, 0.627 o constantă de proporționalitate.

În condiții fixate se poate remarca că:

$$i_d = const \cdot C$$

deci există o relație liniară între înălțimea undei şi concentrația substanței de analizat.

Există câteva neajunsuri ale aplicațiilor cantitative pentru această metodă. Astfel, prin măsurarea continuă a curentului în timpul creşterii picăturii, apare o contribuție substanțială a curentului capacitiv care nu mai depinde de specia de analizat, ci de matricea soluției. Când mercurul se desprinde de la capătul capilarei, în perioada inițială de formare a unei noi picături, are loc o creştere rapidă a ariei laterale a acesteia. Spre finalul vieții picăturii, există o creştere mult mai mică a suprafeței acesteia, ceea ce diminuează contribuția modificărilor capacitive la curentul total măsurat. Curentul care prezintă interes al speciei active provenită din substanța de analizat - *curentul faradaic* - scade cu rădăcina pătrată a timpului (o dată cu creşterea dimensiunilor stratului de difuziune Nernst). Scăderea exponențială a curentului capacitiv este cu mult mai rapidă decât a celui faradaic astfel că la finalul vieții picăturii contribuția curentului faradaic este decisivă. Din cauză că peste acest fenomen se suprapune modificarea continuă a potențialului, chiar şi pe momentul desprinderii picăturii (de exemplu, la o viteză de baleiaj de 2 $mV \cdot s^{-1}$ şi la o viteză de picurare de 4 sec, pe parcursul desprinderii picăturii, apare o diferență de 0.8 mV între momentul desprinderii şi momentul începerii formării unei noi picături), există o oarecare contribuție capacitivă a curentului la valoarea totală a semnalului. De aceea, raportul semnal-zgomot caracteristic acestei metode nu permite măsurarea unor concentrații mai coborâte de ordinul 10^{-5}-10^{-6}M. Pentru o mai bună observare a curentului faradaic separat de cel capacitiv s-au introdus *tehnicile puls-polarografice*.

Tehnica puls-polarografică normală

Realizează o minimizare a efectelor zgomotului de fond, în special ale celui adus de curentul capacitiv. În puls-polarografia obişnuită, fiecare nou pas începe de la aceeaşi valoare (o valoare la care nu există curent faradaic) iar amplitudinea fiecărui pas consecutiv creşte, faţă de cel anterior, cu incremente mici (fig. 19).

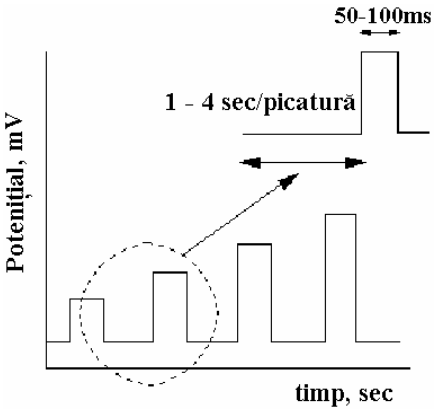


Fig. 19. Principiul puls-polarografiei obişnuite

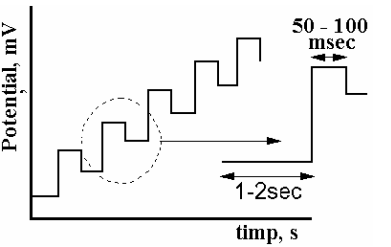


Fig. 20. Variaţia potenţialului în cazul polarografiei cu undă pătrată

Când picătura se desprinde din capilară, la intervale predeterminate de timp cu ajutorul unor lovituri (mecanice), provocate de un dispozitiv special, potenţialul revine automat la valoarea iniţială (aceeaşi) în vederea unui nou pas. Polarograma se obţine, în acest caz, prin reprezentarea curentului măsurat în funcţie de timpul la care se petrece fiecare pas. În consecinţă aspectul curbei nu mai este măsurat pe tot parcursul creşterii picăturii şi este strict în formă de S. Utilizând paşi de potenţial foarte mici, şi măsurându-se curentul doar spre sfârşitul perioadei de formare a fiecăreia dintre picături - când contribuţia curentului faradaic este dominantă (mai concret ultimele 50-100ms din viaţa unei picături - care poate fi în mod obişnuit de 1-4s), prin această tehnică se asigură şi un potenţial aplicat constant, precum şi o suprafaţă a picăturii practic constantă. Aplicarea puls-polarografiei a dus la o creştere a sensibilităţii de până la trei ori, adică la limite de detecţie de 10^{-7}-10^{-8}M.

Polarografia cu undă pătrată

Polarografia cu undă pătrată sau *puls-polarografia diferenţială*, este o variantă şi mai evoluată, în care fiecare picătură face obiectul a două măsurători de curent diferite, una înainte de pulsul de tensiune - fiecare puls având de 50 mV - iar cealaltă exact înainte de căderea picăturii (fig. 20). Curentul determinat constituie diferenţa dintre curentul măsurat la sfârşit şi cel măsurat înainte de pulsul de tensiune. Apoi aceste diferenţe sunt reprezentate în funcţie de valoarea medie a potenţialului. Graficul diferenţelor de intensitate măsurate în

funcție de tensiunea amintită este mai puțin afectat de zgomotul de fond, având forma unui pic - reprezentând de fapt diferențiala undei în formă de S. Înălțimea picurilor obținute este parametrul cantitativ al semnalului iar poziția maximului cel calitativ, adică echivalentul potențialului de semiundă. Limitele de detecție în această tehnică sunt de 10^{-8}-10^{-9}M din cauza discriminării și mai bune a curenților capacitivi de cei faradaici.

Voltametria ciclică

Constă în aplicarea unui potențial care variază periodic, între două valori prefixate, cu o viteză cunoscută. În coordonate potențial catodic - timp, apar niște unde triunghiulare, așa cum se poate observa pe fig. 21. Curbele curent - potențial, redate în fig. 22 - numite *voltagrame ciclice* - arată ca niște polarograme, fiind urmate apoi de curentul rezidual și apoi de curentul rezultat din reacția care se petrece în sens opus, pe măsură ce potențialul revine la valoarea inițială - urmărind curbele în ordinea t_0, t_1 și t_2.

Pentru o reacție reversibilă curentul vârfului (picului) corespunde concentrației analitului conform ecuației Randles-Sevcik:

$$i_p = (2.69 \cdot 10^{-6}) \cdot z^{3/2} \cdot A \cdot C \cdot D^{1/2} \cdot \nu^{1/2}$$

unde i_p reprezintă curentul corespunzător picului (A), z - numărul electronilor implicați în semireacție, A - suprafața electrodului (m^2), D - coeficientul de difuziune ($m^2 \cdot s^{-1}$), ν - viteza de baleiaj ($V \cdot s^{-1}$), C - concentrația în $mol \cdot L^{-1}$.

Se poate observa și aici proporționalitatea dintre i_p și concentrația analitului, exact ca în polarografia simplă.

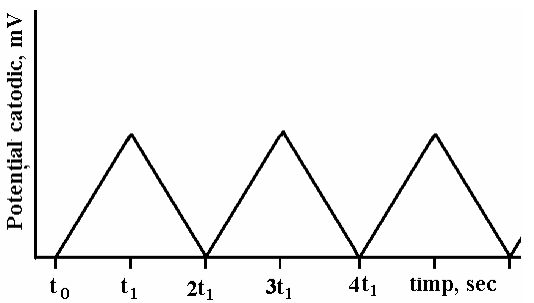


Fig. 21. Aspectul variației potențialului în voltametria ciclică

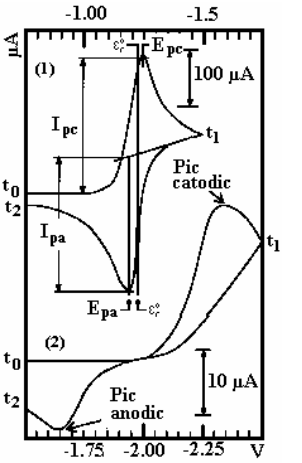


Fig. 22 Forma semnalelor obținute în voltametria ciclică

Tehnica este utilizată frecvent, în ultimul timp [70], deoarece furnizează informații privind viteza de transfer dintre electrod şi analit, privind stabilitatea analitului în sistemul dat şi de asemenea, permite estimarea potențialului normal redox (de reducere), ε_r^0. Pe fig. 22 se mai pot observa potențialele catodice şi anodice de vârf (pic), notate E_{pc} şi E_{pa}, precum şi valorile curenților, I_{pc}, I_{pa} - egali. Valorile I_{pa}, respectiv I_{pc}, reprezentate în funcție de C trebuie să dea o dreaptă care trece prin zero, altfel indicând suprapunerea peste fenomenul reversibil al unei adsorbții (fizice). Potențialul de reducere, ε_r^0 se poate calcula prin media dintre E_{pa} şi E_{pc}: $\varepsilon_r^0 = (E_{pa} + E_{pc})/2$.

Voltametria de redizolvare anodică

Numită şi *stripping voltammetry* (în engleză), este metoda bazată pe redizolvarea depozitului obținut într-o primă fază prin electroliză, dizolvare de regulă anodică (dar mai rar şi catodică) constituie un ansamblu de tehnici foarte sensibile, utilizate pentru determinarea urmelor de metale în mediul ambiant, datorită limitelor de detecție foarte joase şi a preciziei relativ ridicate 1-2%; lucrează în două etape:

1. Prima etapă este *depunerea*. Pe un electrod menținut la un potențial controlat, constant, scufundat într-o soluție agitată, se depune prin electroliză timp de 1-30 minute o fracțiune din analitul electroactiv - de regulă un metal (fig. 23). Acest electrod este constituit de cele mai multe ori dintr-o picătură de mercur suspendată (*electrod de mercur nepicurător*) sau dintr-un electrod de cărbune sticlos acoperit cu mercur. În urma electrolizei din soluția agitată se concentrează metalul de analizat, rezultat din ionul M^{z+}, care formează cu mercurul un amalgam, M(Hg).
2. Urmează apoi a doua etapă, *redizolvarea*. Se opreşte agitarea şi se micşorează progresiv diferența de potențial dintre electrodul de mercur şi cel de referință, măsurându-se curentul. Electrodul de mercur conținând amalgamul - inițial catodul celulei - devine progresiv anod iar curentul la început creşte apoi revine la zero spre sfârşit (fig. 24). Aşadar, reversibilitatea reacțiilor redox duce la o redizolvare a analitului. Semnalul analitic îl constituie, în acest caz, suprafața curbei curent-tensiune obținute, din care se calculează, pe baza legii lui Faraday, cantitatea de metal din probă.

În ultimul timp tehnica a mai fost combinată şi cu polarografia cu undă pătrată, care a asigurat o reversibilitate şi mai bună a metodei. Anume, scăderea tensiunii are loc în trepte, analog cu modalitatea de creştere a tensiunii în polarografia cu undă pătrată. În mod cu totul similar are loc şi măsurarea curentului.

[70] Informații se mai pot găsi la: http://www.epsilon-web.net/Ec/faq/faqtec.html#Cvrev

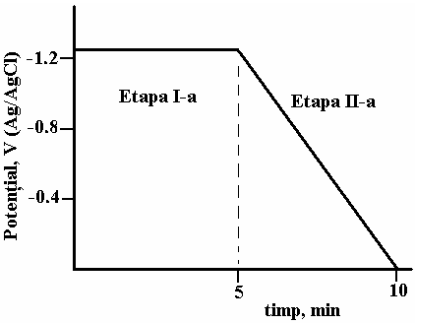


Fig. 23. Aspectul evoluției potențialului electrodului de lucru în cadrul voltametriei de redizolvare anodică

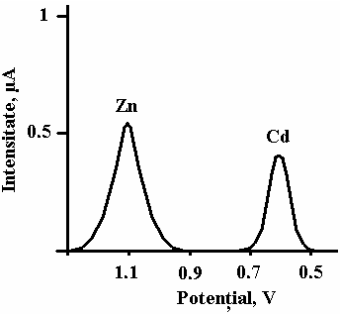


Fig. 24. Forma semnalului analitic în cadrul determinării Zn şi Cd prin voltametrie de redizolvare anodică

De exemplu pentru analiza unui amestec Cd, Zn cu potențialele de descărcare -0.40V, respectiv, -0.763V, variația de potențial medie este redată pe fig. 23 (etapa I durează 5 min). Apoi, în urma etapei a II-a, prin modificarea în tensiuni se obțin curbele din fig. 24.

Aplicații

Polarografia şi variantele sale sunt metode de analiză chimică atât calitativă cât şi cantitativă a amestecurilor de compuşi organici sau anorganici, cu condiția ca aceştia să fie electroactivi. Limitele de concentrație la tehnica obişnuită - cea în curent continuu - sunt 10^{-2}-10^{-5}mol·L^{-1}, adică are un domeniu dinamic larg, şi se caracterizează printr-o precizie de 1-3%. Aspectul unei polarograme pentru un amestec Cd^{2+}, Zn^{2+} este redat prin curba 1 din fig. 25. Dacă soluția conține şi titan, mai apare o undă redată prin curba 2 de pe aceeaşi figură.

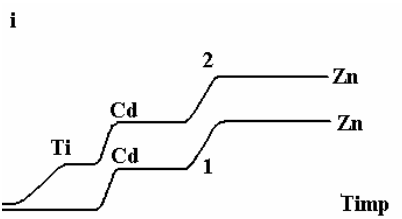


Fig. 25. Aspectul polarogramelor amestecurilor de ioni: 1= Cd^{2+}, Zn^{2+}; 2= Ti^{3+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}

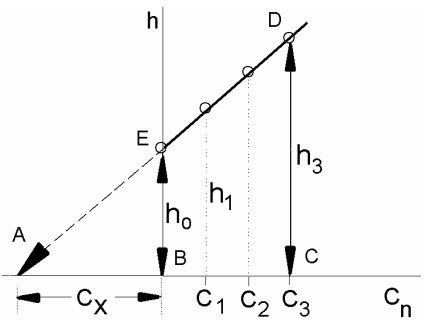


Fig. 26. Ilustrarea principiului metodei adaosului standard simplu şi multiplu

În analiza chimică, se lucrează printr-una din cele două metode cunoscute *metoda curbei de etalonare* sau metoda *adaosului standard*. În prima se utilizează o curbă de etalonare în coordonate semnal (înălțimea undei) - concentrație, de regulă alcătuită pe baza a 5-8 puncte, obținute cu ajutorul unor soluții etalon. În a doua, se adaugă într-un volum de soluție de probă, V, cunoscut precis, având concentrația necunoscută, C_x, un volum, v - mult

mai mic, dintr-o soluție etalon, cunoscută, de concentrație C_{CUN}, a speciei de analizat. Această variantă presupune o liniaritate pe un domeniu mai larg de concentrații.

În *metoda adaosului standard (simplu)*, inițial se măsoară semnalul h_0 în soluția de analizat şi după adaosul volumului v, noul semnal h_1 corespunzător noii concentrații, de exemplu C_1 - necunoscută. Deoarece avem o proporționalitate între semnal și concentrație (fig. 26) rezultă:

$$\frac{h_0}{h_1} = \frac{C_x}{C_1}$$

Aceasta provine atât din soluția de analizat, necunoscută cât şi din soluția etalon, cunoscută. Expresia pentru noua concentrație C_1 se poate scrie:

$$C_1 = \frac{C_x \cdot V + C_{CUN} \cdot V}{V + v}$$

Înlocuind C_1 în ecuația precedentă se poate exprima concentrația necunoscută C_x, printr-o expresie nu tocmai simplă dar practică dacă se foloseşte un calculator. O metodă mai sigură este *metoda adaosului standard multiplu*. Aceasta se bazează pe reprezentarea grafică a semnalului doar în funcție de concentrația cunoscută (v. fig. 26). În această metodă se utilizează tot proporționalitatea semnal - concentrație mai ales atunci când domeniul liniar este larg. Prin introducerea de 1, 2 sau n volume, v, de concentrație cunoscută C_{CUN} în volumul V al soluției de analizat, cu concentrația C_x se vor crea noi concentrații C_1, C_2, ..., C_n, introduse din exterior, peste cea inițială, care se pot calcula astfel:

$$C_n = \frac{nvC_{CUN}}{V + nv}$$

Semnalul, crescând liniar cu concentrația, poate fi extrapolat, intersectând axa negativă în punctul A (vezi fig. 26). Acest punct permite calculul concentrației necunoscute C_x prin simpla comparație a dimensiunii segmentelor AB cu un segment de pe axa pozitivă a concentrației, C_n. De exemplu, dacă C_x este egal ca lungime cu intervalul 0 - C_3 atunci C_x=C_3. Logica metodei se poate găsi în asemănarea triunghiurilor ADC şi AEB din fig. 26. Aşadar C_x va trebui exprimat în aceleași unități cu concentrațiile de pe scara C_n. Numărul mai mare de puncte asigură un plus de încredere în liniaritatea metodei și o exactitate mai bună fiind vorba de o medie a mai multor determinări.

Întrebări de verificare

1. Care este ecuația care redă factorii de care depinde potențialul de electrod?
2. Ce electrozi de referință cunoașteți?
3. Ce tip de electrod, dintre cele 4 tipuri cunoscute, este electrodul de argint - clorură de argint?
4. Din ce categorie de electrozi face parte electrodul de sticlă?
5. Care electrod se folosește, în caz de litigiu, pentru evaluarea pH-ului?
6. De ce tip este un electrod de platină scufundat într-un amestec de ioni Ti^{4+}, Ti^{3+}?
7. Ce formă are curba de titrare potențiometrică?
8. Ce unitate se utilizează pentru exprimarea conductanței?
9. În ce tehnică se utilizează electrodul picurător de mercur?
10. Cum se numește semnalul analitic în polarografie şi ce caracteristici are?
11. Prin ce se deosebește voltametria ciclică de polarografie?
12. Ce mărimi fizice se înregistrează în coulometrie?
13. Ce reprezintă ecuația lui Ilcovič?
14. Ce variante se pot utiliza pentru analiza cantitativă în polarografie?
15. Când se poate aplica metoda adaosului standard?

Dacă nu poți suporta căldura, nu gâdila balaurul
Scott Fahlman (specialist în Știința Calculatoarelor, n. 21 Mar 1948 [71]) - cu referire la Harry S. Truman

Metode termice de analiză

O metodă generală de analiză chimică instrumentală este *analiza termică* adică metoda de estimare calitativă şi cantitativă bazată pe efectul termic al unor fenomene chimice provocate experimental.

Metodele termice de analiză măsoară diferenţele relative ce apar, între o probă şi un anumit etalon, în ceea ce priveşte o anumită proprietate, o dată cu creşterea temperaturii sau a diferenţei de temperatură dintre probă şi etalon, simultan cu încălzirea probei.

În afară de faptul că orice fenomen chimic este însoţit de un efect termic, uneori mai mare alteori mai mic, substanţele chimice nu sunt stabile termic în orice condiţii. Mai precis, de la o anumită temperatură, în sus (sau, după caz, în jos), substanţele chimice suferă transformări fizico-chimice detectabile prin măsurători de temperatură (termometrie), iar prin determinarea altor parametri fizici măsuraţi simultan cu schimbarea de temperatură, acestea pot fi analizate. Astfel, termic, se pot urmări unele fenomene fizice ca: topirea, cristalizarea, fierberea, sublimarea şi vitrifierea (la polimeri, de exemplu) sau fenomene chimice cum ar fi diverse reacţii de oxidare (ardere), descompuneri, deshidratări sau interacţiuni fizice (chemosorbţii).

Termometrie

Temperatura de topire a substanţelor (respectiv cea de solidificare) sau cea de fierbere, fiind nişte constante fizice, pot servi la determinarea purităţii. Astfel, în cazul unei sinteze organice, punctul de topire este prima dovadă că s-a obţinut produsul dorit. În cazul aliajelor binare (formate doar din două metale) curbele de răcire prezintă nişte schimbări de viteză de răcire ce permit determinarea compoziţiei acestora. Determinarea temperaturii critice a soluţiei formate din două lichide diferite, parţial miscibile, permite de asemenea determinarea compoziţiei amestecurilor binare. De exemplu, două lichide separate printr-o interfaţă (deci formând două faze) la încălzire lentă formează, la atingerea unei anumite temperaturi, o singură fază. Aceasta se mai numeşte temperatură critică superioară a soluţiei. Metoda serveşte în tehnică, de exemplu, la determinarea *punctului de anilină* al uleiurilor.

Punctul de anilină este temperatura la care volume egale de ulei şi anilină formează împreună o singură fază transparentă (omogenă). Practic, cantităţi mici de probă sunt introduse într-un tub capilar şi observate, în timpul încălzirii cu viteză mică, la microscop.

[71] http://www-2.cs.cmu.edu/~sef/

Punctul de rouă, respectiv temperatura la care vaporii condensează, constituie o metodă de estimare a umidității în cazul gazelor. O metodă de analiză chimică cantitativă aproape generală o constituie *titrarea entalpimetrică*.

Titrarea entalpimetrică

Titrarea entalpimetrică (denumită uneori şi titrare termometrică sau calorimetrică) este un procedeu aplicabil oricărei reacții cantitative. Se aplică atunci când nu există un indicator optic al sfârşitului titrării (fie de culoare fie de fluorescență) sau unul electrochimic. Metoda se poate utiliza chiar în lichide tulburi, colorate intens sau neomogene. În cursul titrării trebuie să existe o corespondență unică $\Delta T \leftrightarrow \Delta H$. Astfel, în situația când căldura degajată este ΔH pentru un mol atunci pentru n moli efectul termic va fi $n \cdot \Delta H$. Dacă se notează cu K constanta calorimetrică a incintei termostatate avem:

$$-\Delta T = \frac{n \cdot \Delta H}{K} \qquad (1)$$

Astfel, utilizând o biuretă şi un instrument sensibil la temperatură - un termocuplu sau un termistor - precum şi un dispozitiv de înregistrare a acestui semnal, se poate realiza o analiză instrumentală universală, la un preț accesibil (fig 1).

Graficul obținut, în coordonate temperatură - volum de titrare, permite sesizarea sfârşitului reacției, deci a volumului de echivalență (fig. 2). Măsurându-se volumul de soluție luat, valoarea ΔH fiind cunoscută, se poate fie calibra vasul calorimetric (adică determina constanta calorimetrului K), cunoscându-se numărul de moli N luați dintr-o substanță etalon, în conformitate cu ecuația prezentată anterior, fie cunoscându-se constanta K să se determine, prin titrare, valoarea N.

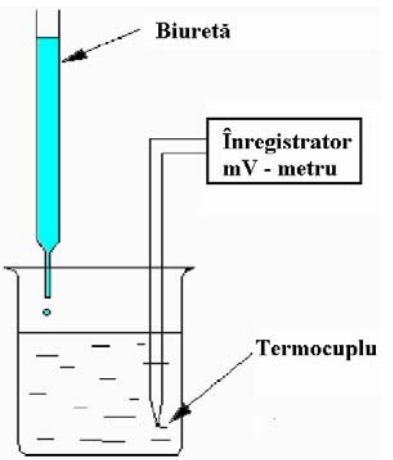


Fig. 1. Un dispozitiv simplu

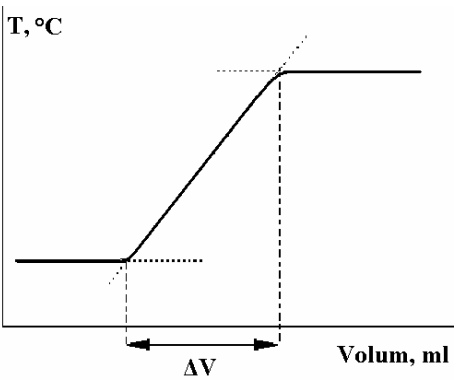


Fig. 2. Curbă de titrare termometrică

pentru titrare termometrică

Metoda poate fi aplicată chiar şi în solvenți organici, în soluții colorate sau în topituri, fiind realmente o metodă utilă atunci când alte alternative cad. În loc de flacon de titrare se poate utiliza un vas izolat termic: fie un vas Dewar (vas cu pereții dubli, vidat şi argintat), fie un vas din polietilenă plasat în mijlocul unui cub din spumă polistirenică sau poliuretanică de dimensiuni 20x20cm. Acesta echivalează cu un termostat de calitate bună. Dispozitivele utilizate pentru măsurarea temperaturii pot să fie un termocuplu legat la un potențiometru înregistrator sensibil, un termistor legat la un microampermetru sensibil, iar mai recent o rezistență electrică, sensibilă la temperatură, legată printr-o interfață adecvată la un calculator.

Analiza termogravimetrică (TG şi DTG)

Termogravimetria (TG) se poate defini ca studiul schimbării masei materialelor în funcție de temperatură, de timp și într-o atmosferă dată. TG este o tehnică prin care se măsoară masa probei o dată cu creşterea temperaturii. Metoda este utilă în determinarea purității probei precum și a concentrațiilor de apă, de carbonați sau de substanțe organice din materiale, dar în general pentru studierea oricărei reacții de descompunere termică.

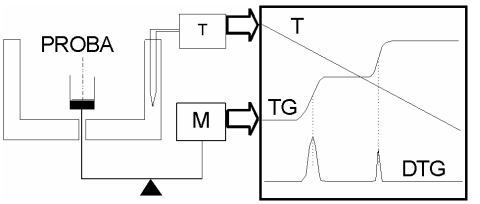


Fig. 3. Schema de principiu a înregistrării curbelor T şi TG

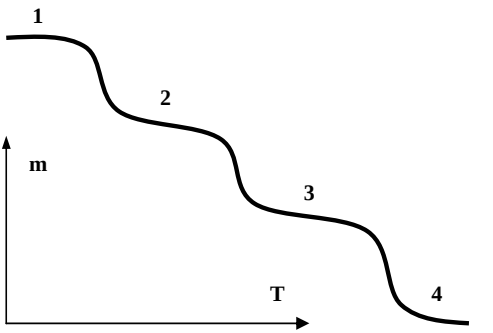


Fig. 4. Aspectul curbei termogravimetrice (TG) pentru oxalatul de calciu

Astfel, prin încălzirea (sau răcirea) cu viteză constantă a unei combinații sau a unui material, acesta poate suferi o serie de transformări atât fizice cât şi chimice care pot fi puse în evidență prin măsurarea simultană a masei probei şi a temperaturii acesteia. Modificările masice înregistrate duc la nişte reprezentări grafice numite *termograme* sau *curbe termogravimetrice* (prescurtate TG) precum şi la diferențiale ale acestora (DTG) vizibile în fig. 3. Aparatura utilizată este descrisă principial în aceeaşi figură. Se observă că proba se încălzeşte într-un cuptor, a cărui temperatură se măsoară, viteza de încălzire fiind controlată în aşa fel ca temperatura să crească continuu şi, pe cât posibil, liniar. Simultan proba se cântăreşte.

Termogramele (curbele TG) constituie adevărate amprente pentru probe formate din amestecuri complicate de substanțe, permițând chiar analize cantitative de minerale prin utilizarea metodei adaosului standard. Un exemplu de termogramă este prezentat în fig. 4, pentru oxalatul de calciu. Se poate observa câte un palier pentru fiecare compus care apare în urma transformării termice. Primul salt corespunde pierderii apei, al doilea transformării în carbonat iar al treilea descompunerii carbonatului în oxid de calciu şi apă. Deci pe parcursul termogramei au loc reacțiile:

$$\underset{1}{CaC_2O_4 \cdot H_2O} \rightarrow \underset{2}{CaC_2O_4} \rightarrow \underset{3}{CaCO_3} \rightarrow \underset{4}{CaO + H_2O}$$

Analiza termodiferențială

Analiza termodiferențială (DTA) se bazează pe măsurarea diferenței de temperatură dintre probă şi o substanță de referință, o dată cu încălzirea întregului sistem. Metoda este sensibilă la procese endo- şi exotermice cum ar fi: tranziții de fază, deshidratări, descompuneri, reacții redox şi reacții în fază solidă.

Curbele DTA, obținute în urma aplicării metodei, înregistrează diferența de temperatură, ΔT, ce apare între probă şi o substanță de referință, de regulă Al_2O_3, aflate ambele în acelaşi cuptor într-un proces de încălzire. Este o tehnică veche, introdusă de W. C. Roberts-Austen încă din 1899. Se lucrează, de exemplu, cu un termocuplu diferențial (vezi fig. 5).

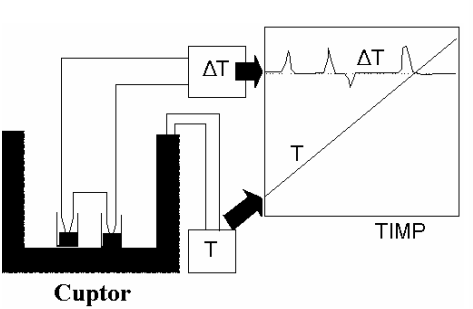


Fig. 5. Schema de principiu a obținerii curbelor DTA

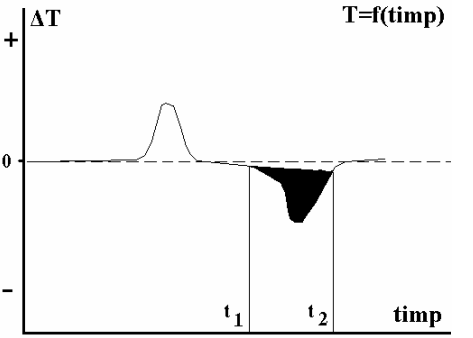


Fig. 5.6. Semnalul analitic în DTA

Astfel, proba şi materialul de referință se află ambele în aceleaşi condiții de temperatură T, fie în încălzire, fie în răcire sau păstrate la o valoare constantă a temperaturii în timp. La o anumită temperatură doar proba suferă o transformare - ce decurge, în funcție de natura acesteia, cu absorbție sau cedare de căldură. Curba ΔT - funcție de T constituie *curba termodiferențială* sau DTA. Se pot pune în evidență fenomene exotermice (ΔT<0) sau endotermice, rezultând o curbă caracteristică pentru un anumit material (de ex. pământuri, minerale, metale). Pentru cazul simplu când conductibilitatea termică a probei, k, coincide cu cea a probei etalon, inerte din punct de vedere al modificărilor de structură, sub acțiunea temperaturii, între masa probei m şi ΔT se poate scrie ecuația:

$$\Delta T = \frac{m}{k} \cdot \frac{dH}{dt} \qquad (2)$$

unde dH/dt reprezintă cantitatea de căldură degajată (respectiv consumată) de 1 mol substanță în unitatea de timp, la un moment dat, t. În intervalul de timp t_2 - t_1, cât durează transformarea endotermică (vezi fig. 6) se poate scrie:

$$m\int \frac{dH}{dt} = k\int \Delta T dT \qquad (3)$$

Pentru transformarea de mai sus, rezultatul primei integrale - ΔH - fiind o constantă iar numărul de moli N = m/M, ecuația se poate rescrie:

$$N = \frac{k}{\Delta H}\int \Delta T dT \qquad (4)$$

unde integrala reprezintă chiar aria de sub curbă (vezi porțiunea înnegrită fig. 6). Deci, cunoscând efectul termic al reacției (ΔH) şi determinând aria de sub curbă, se pot realiza cu această tehnică analize cantitative, evaluându-se numărul de moli n dintr-o substanță pe baza unei etalonări prealabile.

Aparatele ce înregistrează simultan curbele T, TG, DTG şi ATD pe aceeaşi probă au primit denumirea de *derivatografe*.

Calorimetria diferențială

Este cunoscută sub prescurtarea *DSC* (de la *differential scanning calorimetry*); oferă aceleaşi informații dar prezintă câteva avantaje şi anume factorii cum ar fi granulația precum şi pregătirea probei afectează mai puțin curbele, iar exactitatea şi precizia sunt mult îmbunătățite. Metoda mai aduce în plus şi calitatea de a se putea determina capacitățile calorice ale materialelor.

Calorimetria diferențială (DSC) măsoară independent debitele de flux termic spre o probă şi spre un etalon, care se află ambele la aceeaşi temperatură. Se determină apoi diferența dintre cele două fluxuri termice şi se reprezintă grafic diferența dintre fluxurile termice, în funcție de temperatură.

Tehnica a fost introdusă în 1964 de Watson şi O'Neill. Se utilizează două incinte calorimetrice, una conținând proba şi alta, materialul de referință, separate una de alta, dar menținute de două dispozitive de încălzire separate (rezistențe de platină), la aceeaşi temperatură. Încălzirea, realizată electric, se înregistrează. În acest fel proba care absoarbe căldură va necesita o încălzire suplimentară pentru a se realiza temperatura dorită - cea fixată printr-un program de temperatură prevăzut dinainte. Finețea mai mare face posibile şi alte aplicații ca:

÷ determinarea temperaturii de tranziție în polimeri,

÷ determinarea temperaturii de denaturare a proteinelor,

÷ identitatea a două materiale - cauciuc, sol, asfalt, ulei, vopsea.

Toate acestea ale DSC apar pe lângă aplicațiile curente ale analizei clasice ATD.

Alte tehnici moderne sunt pe cale să devină metode curente. Astfel, în 1993 M. Reading a introdus tehnica *DSC cu temperatură modulată*. În această variantă, în ambele incinte calorimetrice, creşterea de temperatură urmează o modulare, adică o undă pătrată, în

medie creșterea de temperatură fiind liniară. Răspunsului i se aplică apoi transformata Fourier. Prin această metodă se pot separa procesele reversibile de cele nereversibile crescând rezoluția şi sensibilitatea determinărilor în cazul tranzițiilor vitroase. În 1998, un colectiv (condus de acelaşi autor) a introdus *analiza calorimetrică combinată cu microscopia cu efect de câmp*. Aici, vârful utilizat de microscopia cu efect de câmp pentru urmărirea topografiei suprafeței este înlocuit cu o rezistență miniaturizată. Vârful baleiază suprafața probei rezultând imaginea suprafeței - similar cu cea din microscopia cu efect de câmp. Vârfului respectiv i se mai aplică o modulare de câteva grade peste temperatura probei, prin curentul alternativ utilizat, acesta având frecvențe de ordinul kHz - ilor. Datele permit, în afară de imaginea suprafeței, obținerea de informații privind conductivitatea termică și difuzivitatea termică a probei.

Întrebări de verificare

1. Cum se pot defini metodele termice de analiză?
2. Ce metode termometrice puteți aminti?
3. Ce mărimi se măsoară în analiza termogravimetrică şi la ce poate servi metoda?
4. Ce deosebire există între curbele DTG şi DTA?
5. Care este etalonul cel mai utilizat pentru analiza termodiferențială?
6. De ce între două fenomene termice în tehnica DTA curba este practic orizontală?
7. În ce constă diferența dintre tehnicile DSC şi DTA?

Ştiinţa nu are patrie
Louis Pasteur (1822-1895), Chimist şi biolog francez

Metode optice de analiză

Generalităţi

Metodele optice de analiză utilizează ca mijloc de excitare a substanţelor (respectiv atomilor componenţi ai moleculelor) radiaţia electromagnetică, în vederea obţinerii de informaţii privind fie natura constituenţilor fie cantitatea acestora.

Se ştie că radiaţia electromagnetică este o forma a materiei specifică, cu proprietăţi atât de undă cât şi de particulă (comportament dual). Componentele - electrică şi magnetică - oscilează perpendicular una pe alta dar şi pe direcţia de propagare. Caracteristicile cantitative ale luminii sunt:

÷ *lungimea de undă* a oscilaţiei (λ),

÷ *frecvenţa* (ν) legată de lungimea de undă prin: $\nu = c/\lambda$ unde c este viteza luminii,

÷ *amplitudinea* (A),

÷ *polarizarea*.

Orice rază de lumină poate fi asociată unui flux de fotoni (concepţia corpusculară) fiecare foton având energia E şi anume:

$$E = h\cdot\nu = h\cdot c/\lambda \qquad (1)$$

Adeseori se foloseşte în locul frecvenţei *numărul de undă*, $1/\lambda$, de preferinţă exprimat în cm^{-1} care se notează $\bar{\nu}$.

Fasciculele de electroni şi neutroni se supun aceloraşi legi dar masele particulelor fiind mai mari şi lungimile de undă sunt mult mai mici.

Intensitatea undei electromagnetice, I, este definită ca energia ce trece prin unitatea de suprafaţă şi este legată de amplitudinea, A, prin ecuaţia:

$$I = A^2c/8\pi \qquad (2)$$

Interacţiunea cu materia a diferitelor radiaţii, pe diversele sale domenii spectrale, a constituit o sursă bogată de informaţii privind proprietăţile şi compoziţia chimică a materialelor dar şi ale mediului ambiant.

O mare parte din informaţiile cantitative pe care le deţinem la ora actuală privind structura atomilor, moleculelor sau materialelor au fost obţinute prin excitarea substanţei cu o anumită formă de energie electromagnetică - deci prin metodele spectrale (optice).

De altfel şi în metodele electrochimice, substanţelor li se aplică din exterior energie electrică sau sunt aduse în situaţia de a reacţiona şi a emite energie.

Analog stau lucrurile şi în metodele optice [72]. De exemplu, radiația infraroşie posedă o energie potrivită pentru a face atomii moleculelor din aer să intre în vibrație. Cedând energie, lumina infraroşie scade în intensitate. *Energia nu dispare ci se transformă treptat în energie de agitație termică - formă spre care tinde orice energie furnizată materiei*. Pe de altă parte, lumina ultravioletă (UV), anume cea cu lungimi de undă sub 200nm, are o energie potrivită pentru a excita electronii din atomii componenți ai moleculelor (covalente) din substanțele aflate în stare gazoasă în aer. Molecula excitată are un timp de viață scurt, $\sim 10^{-8}$s. După acest interval, aceasta revine la starea fundamentală, în care a existat inițial, emițând la rândul ei (cedând) energie, dar de astă dată în toate direcțiile. Aceasta este *radiația difuzată* (*împrăştiată*). Anumite molecule, ca dioxidul de sulf de exemplu, nu revin direct în starea fundamentală deorece au nivele intermediare. Acestea, când revin din starea intermediară la starea fundamentală, moleculele emit o altă lungime de undă față de lumina primită, în general mai săracă în energie (deci de lungime de undă mai mare). Spunem în acest caz că s-a emis o radiație de fluorescență. Aşadar în domeniul UV moleculele din aer absorb lumină din cauza salturilor electronilor din atomi pe nivele energetice mai înalte. Față de alte domenii ale energiilor luminoase, substanțele pot fi transparente.

Să presupunem că mergem pe bicicletă pe o şosea netedă. Drumul are asperități dar noi nu le simțim pentru că, denivelările fiind mult mai mici față de diamentrul roților, nu interacționează cu acestea. Dacă coborâm o vale şi apoi urcăm o pantă uşoară, o neregularitate cu raza de curbură mult mai mare decât diametrul roților, de asemenea nu ne face să simțim mare lucru. Dacă ajungem cu bicicleta pe un drum cu denivelări de ordin de mărime apropiat de raza roților, bicicleta începe să vibreze, şi să piardă din viteza de înaintare (deci din energie). Când ajungem pe o porțiune cu gropi mari, de 10-20cm nu mai putem înainta practic întreaga energie imprimată bicicletei fiind pierdută. Similar se petrec lucrurile şi în cazul energiei radiației electromagnetice transmise substanțelor. Deci, faptul că o oscilație de o anumită dimensiune este absorbită de atomii, respectiv electronii legăturilor chimice din molecule, indică faptul că în interiorul acestora există acelaşi ordin de mărime a tranzițiilor energetice. Când energia radiației trece practic nereținută, înseamnă că energiile puse in joc în molecula respectivă au cu totul alte ordine de mărime.

Lumina (sau radiația electromagnetică) mai înseamnă şi energie ce se transmite doar în bucăți, numite *cuante de energie*, şi care pot fi calculate din lungimea de undă:

$$E = h\nu = hc/\lambda \qquad (3)$$

Domeniul de lungimi de undă fiind foarte larg, radiația electromagnetică este foarte

[72] *metode optice* se consideră cele care lucrează în domeniul UV, vizibil şi IR iar tehnicile care aplică tot principii optice dar în alte domenii (X, γ etc.) se consideră metode spectrale.

diferită. Dacă ar fi să facem o comparație între energiile radiațiilor IR și X, de exemplu, prima este ca un bulgăre de vată aruncat cu mâna iar a doua este, față de prima, ca un obuz tras dintr-un tun. De aceea, pentru orice legătură chimică sau pentru orice energii implicate în moleculele substanțelor există un domeniu de energii (ale undelor electromagnetice) în care acestea vor interacționa cu substanța respectivă.

În funcție de natura interacțiunii radiațiilor de natură luminoasă cu substanțele, metodele spectrale se pot clasifica în:

÷ metode de absorbție (pe domenii diverse: raze X, vizibil, UV, IR, RMN etc),

÷ metode de emisie a radiației electromagnetice (tot pe diverse domenii),

÷ metode de fluorescență (UV, VIS, X etc), fosforescență sau luminescență,

÷ metode de difracție (cu raze X, cu electroni, cu neutroni),

÷ refractometria și interferometria,

÷ polarimetria,

÷ metode bazate pe difuzia luminii,

÷ metode combinate.

Domeniile spectrale la care ne-am referit anterior sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Domenii spectrale folosite în analizele instrumentale

Lungimi de undă,		Denumirea domeniului spectral	Tipul spectrometriei	Tipuri de tranziții
în cm	în mărimi uzuale			
10^{2}-10^{3}	1m-10m	Radio	RMN	Reorientări de spin nuclear
10^{-1}	1mm	Microunde	RES	Reorientări de spin electronic
10^{-2}	100μm	IR îndepărtat	IR	Rotații moleculare
10^{-3}-10^{-4}	1μm-10μm	IR apropiat	IR	Vibrații moleculare
	400 -750nm	Vizibil	VIS	Energii ale electronilor de valență
10^{-5}	100-400nm	UV apropiat	UV	Energii ale electronilor de valență
10^{-6}	10 nm	UV îndepărtat	UV	Energii ale electronilor interiori
10^{-7}-10^{-8}	1 nm (1Å)	Raze X	Röntgen (de raze X)	Energii ale electronilor interiori
10^{-9}-10^{-10}	0.1-0.01nm	Raze γ	Gama	Energii ale ale nucleonilor

Metodele optice dau și alte informații valoroase privind substanțele, de exemplu: compoziția (concentrații, componenți, faze), viteze de reacție, constante de echilibru, structuri ale combinațiilor (distanțe între atomi, între plane de atomi, energii de legătură).

Contribuțiile cruciale în progresul metodelor optice le-au adus:

÷ Newton - 1696 - ce realizează primul descompunerea luminii albe cu ajutorul prismei;

÷ Wollaston - 1802 - și Fraunhofer - 1859 - care descoperă spectrele de emisie respectiv de absorbție;

÷ Kirchhoff - 1859 - enunță legea privind legătura între capacitatea de emisie și de absorbție a luminii de către corpuri, lege ce-i poartă numele;

÷ Bunsen și Kirchhoff - 1860 - primul chimist, al doilea fizician, pun bazele *spectroscopiei*, devenită astăzi *spectrometrie* datorită măsurătorilor electrice asociate;

÷ Louis de Broglie - 1924 - intuiește existența dualismului corpuscul - undă.

În ultimul timp, principalul progres a fost computerizarea instrumentației spectrometrice pentru toate tipurile de analize, lucru care a deschis noi perspective prelucrării numerice rapide a semnalelor, ceea ce a condus chiar la noi metode (de exemplu extinderea aplicării transformatei Fourier în analizele chimice) dar și utilizarea fibrelor optice, pentru dirijarea drumului optic, ceea ce a dus la micșorarea dimensiunilor instrumentelor.

Întrebări de verificare

1. Ce este o cuantă de energie?
2. Ce devine, în cele din urmă, orice energie furnizată materiei?
3. Pe ce interval de lungimi de undă se găseşte domeniul de radiaţii vizibile?
4. Când nu poate o radiaţie interacţiona cu materia, trecând practic neabsorbită prin aceasta?
5. Ce sunt razele Röntgen?
6. În ce secol a apărut spectrometria de emisie?
7. Ce tranziţii au loc în domeniile vizibil şi UV?
8. Ce fel de tranziţii au loc în cazul apariţiei unui spectru IR?
9. Care radiaţii au energie mai ridicată, razele X sau cele γ?
10. Din ce domeniu spectral face parte metoda care se bazează pe modificări ale stării de rotaţie a spinului electronic?

Nu poți înșela legile naturii fără să fii pedepsit
Honoré de Balzac (1799-1850)

Spectrometria de absorbție în UV-VIS

Principii generale

Una dintre primele metode instrumentale apărute şi utilizate frecvent în practica laboratoarelor de analize chimice din zilele noastre este metoda bazată pe absorbția luminii din domeniul vizibil (domeniu notat în literatura internaționala VIS). Se cunosc mai multe variante importante pentru această metodă: colorimetria, fotometria şi spectrofotometria.

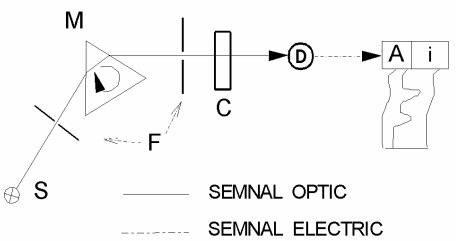
Colorimetria, una dintre tehnicile extrem de mult utilizate în practica analitică, reprezintă varianta în care intensitatea culorii probei [73] se compară vizual sau instrumental, *în lumină albă*, cu un set de soluții etalon - preparate în condiții absolut identice cu proba. Aceasta este o metodă subiectivă şi mai puțin selectivă, pentru că rezultatele depind mult de persoana care execută analiza. Se remarcă faptul că sensibilitatea maximă a ochiului omenesc atinge maximul pentru domeniul 550-560nm (domeniul culorii verzi), lucru important când compararea probei cu etalonul se face vizual. În această tehnică se pot realiza măsurători, prin comparație vizuală, chiar în eprubetă la lumina zilei, rezultând analize chimice cu exactități mai slabe decât 1%. Cu cât există mai multe soluții etalon, pentru comparație, cu atât metoda este mai exactă. Există, după cum am amintit şi metode colorimetrice instrumentale, obiective, dar acestea sunt tot mai puțin folosite. În schimb se folosesc aparate ieftine care utilizează metode colorimetrice bazate pe reacții executate pe hârtie de filtru, pe substanțe aflate în stare adsorbită pe suporturi granulare - în cazul gazelor - şi chiar pe reacții de culoare în soluții.

Fotometria şi spectrofotometria măsoară instrumental lumina transmisă de o soluție *colorată* [74] lucrând cu o sursă de lumină monocromatică. Când lumina incidentă este *filtrată*, prin filtre optice, având un spectru mai larg, avem de a face cu o fotometrie iar când domeniul filtrat este mai îngust (utilizând monocromatoare) vorbim de spectrofotometrie. În ultima variantă, este posibilă fixarea mai precisă a lungimii de undă la care se lucrează. Cu ambele variante se poate chiar trasa un *spectru de absorbție*, adică o curbă, obținută prin măsurarea semnalului în funcție de lungimea de undă a radiației incidente. În literatura de specialitate uneori se foloseşte pentru ambele metode şi denumirea de *metodă colorimetrică* (sau chiar spectrocolorimetrică), ceea ce uneori poate crea confuzii. În domeniul UV, ochiul

[73] a substanței de analizat sau a unei combinații realizate intenționat.
[74] mai precis, care absoarbe lumina pe acel domeniu.

omenesc nepercepând lumina, se utilizează doar *spectrofotometria*. Întrucât principiile sunt identice iar aparatele sunt în multe privințe similare în cele două domenii, în ultimul timp, în afară de aparatele dedicate domeniului VIS sau a celor pentru UV, de multe ori se utilizează un singur instrument pentru ambele intervale de lungimi de undă, ceea ce a dus la denumirea din titlu. Construcția instrumentelor are în general două variante anume *spectrofotometrele monocanal***,** cu un singur drum optic şi cele *comparative*, prevăzute cu două canale. În spectrometrele comparative printr-o singură măsurătoare, proba etalon cu cea de analizat se compară utilizând două radiații care-şi au originea în aceeaşi sursă (*coerente*).

Schematic, un spectrometru de absorbție este redat în figura 1:



÷ sursa de radiație (S),
÷ monocromatorul (M),
÷ cuveta cu probă (P),
÷ detectorul (D),
÷ amplificatorul (A),
÷ înregistratorul (I).

Fig. 1. Părți componente ale spectrofotometrului de absorbție (vezi textul)

Se observă (fig. 1) că radiația incidentă, monocromatică, realizată cu ajutorul *monocromatorului* M, trece prin *cuveta cu probă*, C, unde intensitatea scade față de situația în care în locul probei de analizat se pune o așa-numită *probă martor* (sau *probă oarbă*) - o probă de referință de concentrație zero. Apoi fascicolul cade pe *detectorul* D, unde semnalul optic este transformat în semnal electric. Semnalul rezultat, după o amplificare, poate fi în final măsurat şi înregistrat. *Înregistrat* nu mai înseamnă astăzi întotdeauna preluarea semnalului cu un înregistrator ci mai degrabă introducerea acestuia în memoria unui calculator urmând de regulă prelucrarea automată a datelor.

Materialele din care se confecționează diferitele părți componente ale spectrofotometrelor sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Componentele unui spectrofotometru de absorbție în vizibil şi în ultraviolet

Domeniu spectral	Sursă (lampă, bec)	Monocromator (prisma)	Cuvă	Detector
UV	cu H sau D	cuarț/NaCl (∠ mic), rețea densă	cuarț	celulă fotoelectrică / fotomultiplicator
VIS	filament: W	sticlă/cuarț, rețea medie	sticlă/cuarț	

Se poate remarca faptul că detectorii sunt identici iar cuva de cuarț permite lucrul în ambele domenii. Doar sursele diferă. Prin înglobarea ambelor surse - lampa cu deuteriu şi cea cu wolfram - în același instrument, funcționând consecutiv, s-a reuşit realizarea spectrofotometrelor UV-VIS.

Legea Lambert - Beer

Această lege reprezintă legea de bază folosită în analizele sau determinările spectrofotometrice. Să considerăm o radiație incidentă monocromatică, I_o, care cade pe o celulă conținând proba. Celula are lungimea l iar concentrația substanței ce absoarbe lumina, C. Conform schiței din fig. 2, intensitatea finală, I, este mai mică decât cea inițială, I_o în urma absorbției luminii, la trecerea prin celulă.

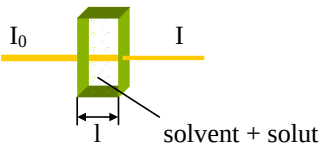


Fig. 2. Absorbția luminii în cazul legii Lambert-Beer

Dacă lungimea l provoacă o reducere cu un anumit procent a intensității inițiale, I_o, de exemplu cu 50%, un nou strat de lungime l, egală cu primul, va acționa, conform legii Lamber - Beer, în același mod, adică va diminua tot la jumătate noua radiație incidentă. Se observă pe diagrama din fig. 3 că graficul punctelor corespunzătoare dimensiunilor celulei 1l, 2l, 3l, … se distribuie pe o curbă exponențială. Această curbă poate fi scrisă algebric ca o funcție:

$$I = I_0 \cdot e^{-kl} \qquad (1)$$

unde k este o constantă. Ecuația precedentă reprezintă una din formele *legii lui Lambert - Beer*. Prin convenție, se numește *transmitanță* fracția transmisă, I a intensității, raportată la I_0, prin cuva cu soluție, T, adică:

$$T = I/I_0 \qquad (2)$$

iar legea Lambert - Beer mai poate fi scrisă și:

$$\ln(I/I_0) = -kl \qquad (3)$$

sau, schimbând semnul:

$$\ln(I_0/I) = kl \qquad (4)$$

Convenim de asemenea să numim *absorbanță*, notată A, logaritmul natural, cu semn schimbat al transmitanței:

$$A = -\ln(T) \qquad (5)$$

Introducând absorbanța [75], A, în ecuația precedentă, legea Lambert-Beer mai poate fi scrisă:

$$A = kl \qquad (6)$$

unde A este absorbanța, k - coeficientul de absorbție iar l - lungimea parcursă de lumină prin mediul *colorat* sau lungimea celulei.

[75] Unele lucrări mai vechi utilizează și termenul de *densitate optică*, în locul absorbanței și aceasta se notează cu D (din l. franceză: densité optique).

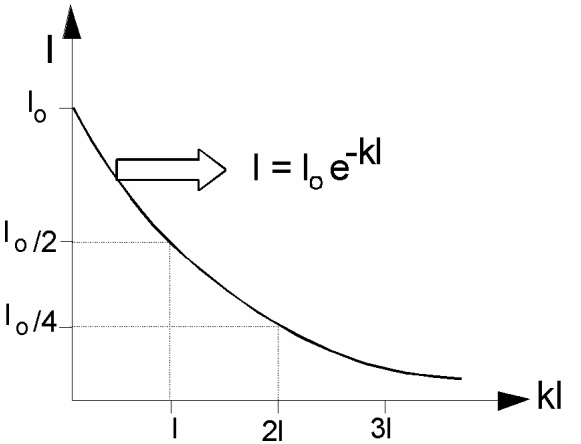


Fig. 3. Forma exponențială a legii Lambert-Beer

Coeficientul de absorbție, k, s-a găsit că este proporțional cu concentrația substanței care absoarbe lumina, C adică k = const.·C. În funcție de diversele moduri de exprimare ale concentrației, constanta k are valori diferite. În cazul exprimării concentrației în mol·L^{-1}, această constantă se numește *coeficient molar de extincție* (sau de absorbanță), simbolizată ε. În consecință *forma cea mai utilizată dar şi cea mai simplă a legii Lambert - Beer este:*

$$A = \varepsilon l C \qquad (7)$$

Din examinarea ecuației precedente se poate observa că dacă l=1cm şi C=1mol·L^{-1}, atunci avem: ε = A. Aşadar, coeficientul molar de extincție reprezintă absorbanța unei soluții de concentrație 1 mol/l dacă lungimea celulei cu probă este 1 cm. Legea este riguros respectată doar pentru o radiație monocromatică. Deci, cu cât filtrul optic este mai îngust, ca domeniu spectral, cu atât liniaritatea dreptei se respectă pe un domeniu mai larg de concentrații. Dar un filtru cu domeniu spectral îngust lasă să treacă puțină lumină şi performanțele metodei sunt condiționate şi de performanțele detectorului.

Domeniul de concentrații al metodei, pentru care se respectă liniaritatea funcției A = f(C), de fapt al valabilității legii Lambert-Beer, din nefericire nu este prea larg. În general, peste nivele de concentrație de 10^{-2} mol·L^{-1} curba de etalonare îşi modifică panta (de regulă aceasta scade). De aceea, *metoda este adecvată mai ales pentru soluții diluate şi nu este o metodă potrivită pentru analize de componente majore* (adică substanțe aflate în concentrații de peste 10%) din orice fel de probe.

Spectre de absorbție

Spectrele de absorbție reprezintă dependența semnalului de lungimea de undă, λ. Există mai multe variante de prezentare dar cea mai utilizată este varianta reprezentării *absorbanței în funcție de lungimea de undă: A = f(λ)*. Celelalte variante, mai puțin utilizate - numite toate spectre de absorbție - sunt T = f(λ), log A = f(λ), ε = f(λ) sau log ε = f(λ). Ultimele două servesc în special pentru caracterizarea speciilor moleculare întrucât nu mai depind de condițiile experimentale în care se fac determinările acestor spectre.

Fiecare substanță are un spectru de absorbție caracteristic, ca formă generală, ca domeniu spectral, ca număr de maxime (denumite picuri) precum și ca raporturi între intensitățile diverselor picuri. Caracteristicile unui spectru sunt redate pe fig. 4. Poziția picului este caracterizată de valoarea sa maximă, λ_{max} . Se numește *maxim de absorbție* atât vârful ca atare cât și lungimea de undă care corespunde maximului. Pot exista unul sau mai multe maxime de absorbție. Numărul de maxime precum și forma generală a curbei, reprezintă *caracteristica calitativă* după care se pot identifica substanțele. De exemplu, în fig. 5 se află spectrul de absorbție în UV al benzenului, aflat în soluție. Maximele acestuia sunt inconfundabile și acesta poate servi, la nevoie, pentru identificarea sau analiza benzenului din soluții.

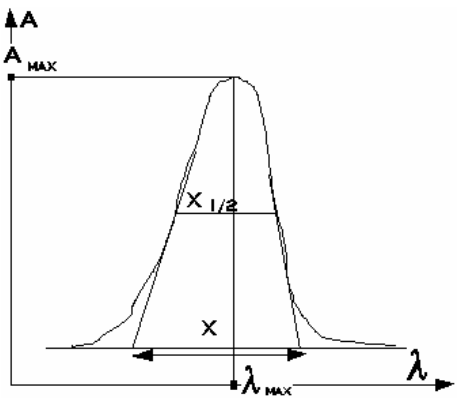


Fig. 4. Caracteristicile maximului de absorbție

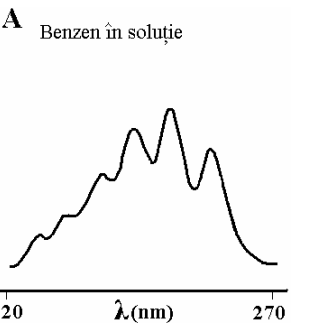


Fig. 5. Spectrul de absorbție al benzenului în soluție

Înălțimea curbei și suprafața încadrată de curbă reprezintă *caracteristici cantitative* care servesc la determinarea concentrației substanțelor din probe. Pentru a se înțelege modul de utilizare, pe fig. 6 se găsesc reprezentate spectrele de absorbție pentru mai multe concentrații (C_1, C_2, ... , C_5) ale aceleiași substanțe în soluție, $Co(NO_3)_2$. Pentru lungimea de undă λ_{max} = 610nm, valorile absorbanței s-au notat A_1, A_2, ..., A_5. Acestea au fost reprezentate în coordonate A, C și în conformitate cu legea Lambert-Beer, toate se înscriu pe o dreaptă. Aceasta este *curba de etalonare* și servește la analiza cantitativă. Nu întotdeauna punctele se

situează toate, în mod riguros, pe o dreaptă deoarece intervin erori experimentale şi din acelaşi motiv, în practică, dreapta nu trece exact prin origine.

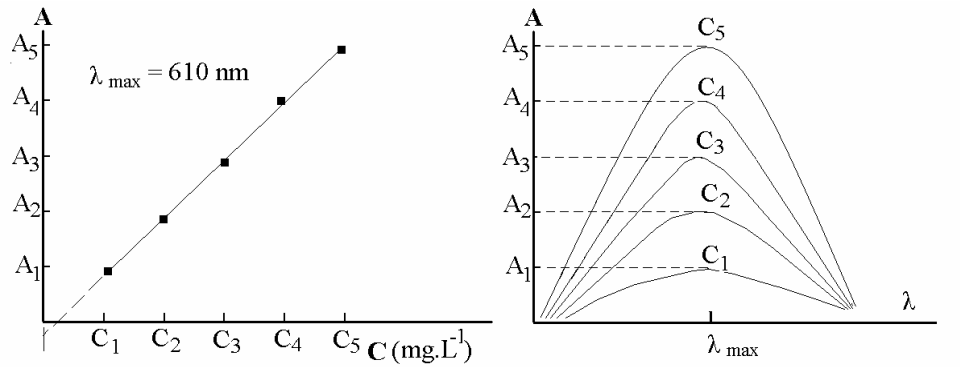


Fig. 6. Utilizarea Legii Lamber-Beer în practica analitică. În dreapta - curba de absorbție la diferite concentrații ale soluției apoase de $Co(NO_3)_2$. În stânga - curba de etalonare având un maxim de absorbție la lungimea de undă, λ_{max} = 610 nm

Selectivitatea unui maxim de absorbție este dată de lățimea piculuі la bază (sau benzii spectrale), notată X pe fig. 4, deoarece cu cât picurile sunt mai înguste se pot mai bine deosebi două substanțe cu spectre având aspecte apropiate. Tot pentru a se evita suprapunerile, în cazul existenței mai multor maxime de absorbție, se preferă lucrul la maximele de absorbție cu lungimile de undă cele mai mari.

Analiza chimică cantitativă

Analiza chimică cantitativă în spectrofotometria de absorbție se bazează pe legea Lambert-Beer. Se utilizează o curbă de calibrare (etalonare): A = f(C), trasată pentru probe de concentrații cunoscute, în aceleași condiții cu cele de analizat, evident lucrându-se cu aceeași celulă și la o lungime de undă *cât mai riguros monocromatică*. Se alege un domeniu de concentrații, pe care se pregătesc *5-8 probe cunoscute* și, după trasarea dependenței A = f(C), grafic (fig 7) sau analitic, se poate trece la analiza cantitativă. Domeniul pe care curba de etalonare este perfect liniară nu este foarte larg (de cel mult o decadă de concentrații). De aceea metoda nu poate funcționa decât *strict pe domeniul pentru care a fost trasată* și, cel mai corect, pe porțiunea de la jumătatea dreptei. Se fac mai multe citiri. Cu cât eroarea la determinarea absorbanței este mai mică cu atât eroarea de determinare a concentrației va fi mai coborâtă. Panta curbei este decisivă în mărimea erorii. Dacă aceasta este foarte mică, eroarea la determinarea concentrației va crește. De aceea, soluțiile foarte colorate duc *automat* la erori, datorită aplatizării curbei la concentrații ridicate și ca urmare conținuturile nu pot fi determinate exact, recurgându-se la diluări. Dacă diluția este prea mare apare o creștere a erorii tocmai datorită diluării, mai precis datorită limitelor determinărilor exacte ale volumelor, lucru ce trebuie avut în vedere. În concluzie, *concentrațiile soluțiilor măsurate trebuie să fie relativ joase.*

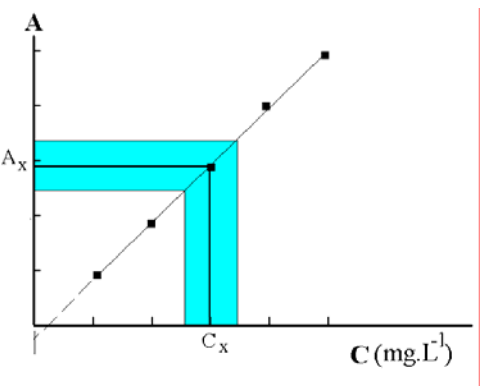


Fig. 7. Analiza cantitativă: pe baza valorii A_x, măsurate, se calculează valoarea C_x

În afară de condițiile de mai sus mai trebuie ținut cont de următoarele reguli practice, foarte importante pentru respectarea legii lui Lambert-Beer și totodată pentru obținerea de rezultate analitice corecte:

÷ *soluțiile trebuie să fie limpezi (fără suspensii) și să nu fie fluorescente;*

÷ *în soluțiile supuse măsurătorilor nu trebuie să se petreacă transformări fotochimice sau reacții cu oxigenul din aer;*

÷ *substanța de analizat nu trebuie să dea asociații, cu compoziții variabile, cu solventul;*

÷ *punctele trebuie să se situeze cât mai riguros pe aceeaşi dreaptă şi prelungirea dreptei să treacă cât mai aproape punctul de coordonate (0,0);*

÷ *absorbanţa măsurată pentru proba necunoscută, A_x, trebuie, pe cât posibil, să se situeze pe porţiunea din mijloc a domeniului punctelor de etalonare.*

Se mai poate utiliza legea lui Lambert-Beer şi pentru determinarea concentraţiei a două specii diferite, de exemplu M şi N, din aceeaşi soluţie. În mod obişnuit se utilizează două lungimi de undă diferite, λ_1 şi λ_2 dar pentru oricare dintre acestea: $A_{total\ \lambda} = A_{M\lambda} + A_{N\lambda}$. Cu alte cuvinte măsurând la λ_1 absorbanţa amestecului, notată $A_{\lambda 1}$ şi la λ_2, absorbanţa $A_{\lambda 2}$, se obţine:

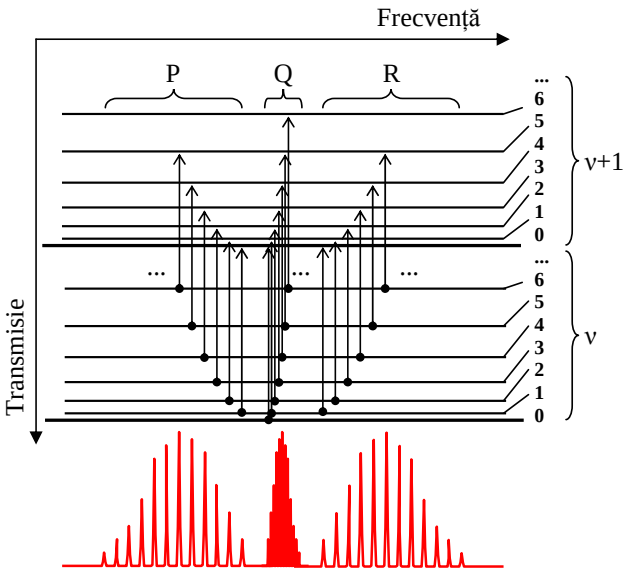
$$A_{\lambda 1} = \varepsilon_{M\lambda 1} C_M l + \varepsilon_{N\lambda 1} C_N l \text{ respectiv, } A_{\lambda 2} = \varepsilon_{A\lambda 2} C_M l + \varepsilon_{B\lambda 2} C_N l \qquad (8)$$

adică un sistem de două ecuaţii cu două necunoscute - concentraţiile C_M şi C_M. Prin rezolvarea algebrică a sistemului de ecuaţii apărut, se pot obţine valorile acestora, deci se pot calcula concentraţiile necunoscute.

Analiza chimică calitativă se bazează pe compararea spectrelor de absorbţie ale substanţelor sau materialelor în domeniul UV-VIS, adică 180-1100nm cu spectre cunoscute. Acest procedeu permite identificarea unui anumit număr de specii chimice, dar numai pentru acele substanţe care absorb în acest domeniu. În chimia organică, de exemplu, absorb în acest domeniu perechile de electroni de valenţă angajaţi în legături σ şi π precum şi perechile de electroni neparticipanţi. Pentru că în cursul acestor tranziţii apar modificări ale polarităţii legăturii respective, aceste spectre au primit numele de *spectre cu transfer de sarcină*. Fiecare tranziţie are asociată o lungime de undă caracteristică (unde va apărea un maxim) şi un coeficient molar de absorbţie, ε, corespunzător. Acestea se datorează unor „salturi" ale electronilor de valenţă, adică a electronilor situaţi pe straturile exterioare ale atomilor angajaţi în legături chimice. În fig. 8 s-au reprezentat schematic acele salturi ale electronilor de valenţă care dau *spectrele electronice*, comparativ cu nivelele implicate în *spectrele de rotaţie* sau *de vibraţie*. Scara energiilor este logaritmică, diferenţele între valorile numerice ale tranziţiilor electronice şi celelalte tranziţii fiind mult mai mari decât cele reprezentate pe figură.

În substanţele formate din molecule covalente se cunosc aşa-numitele *grupări cromofore sau auxocrome*, care sunt grupări de atomi care dau întregii molecule calitatea de a absorbi lumina - în cazul de faţă, în domeniul UV-VIS. Legat de cele amintite anterior, o grupare cromoforă reprezintă locul din moleculă unde-şi au originea tranziţiile electronice. S-a mai introdus şi termenul de *cromogen* care constituie ansamblul dintr-un schelet molecular pe care se găsesc grefaţi mai mulţi cromofori. Pentru o serie de molecule, toate având legate acelaşi cromofor, poziţia şi intensitatea benzilor de absorbţie rămân în mare aceleaşi (tabelul 2). Mai mult, dacă o moleculă conţine mai multe grupe cromofore izolate, mai exact separate

între ele prin cel puțin două legături simple, se poate observa suprapunerea efectelor individuale.



Legendă: 0, 1, 2, ... - reprezintă nivele de rotație; ν, ν+1 - reprezintă nivele de vibrație; Ramura P conține toate tranzițiile cu ΔJ = -1: $\acute{\upsilon}_P$(J) = S(ν+1,J-1)-S(ν,J) = ύ - 2BJ; Ramura R conține toate tranzițiile cu ΔJ = +1: $\acute{\upsilon}_R$(J) = S(ν+1,J+1)-S(ν,J) = ύ + 2BJ; Ramura Q conține toate tranzițiile cu ΔJ = 0: $\acute{\upsilon}_Q$(J) = S(ν+1,J)-S(ν,J) = ύ; Ramura Q este permisă doar pentru tranziții electronice în unele molecule diatomice (ex. NO) și molecule poliatomice neliniare.

Fig. 8. Diagramă energetică corespunzând variantelor tranzițiilor de rotație, vibrație şi electronice posibile pentru o moleculă dată

Tabelul 2. Câteva dintre cele mai intense grupări cromofore caracteristice moleculelor covalente conținând azot:lungimea de undă a absorbanței maxime şi coeficientul de extincție

Denumirea	Amină	Oximă	Nitro	Azotit
Cromoforul	$-NH_2$	=N-OH	$-NO_2$	-O-NO
λ_{max} (nm)	195	190	210	230
ε_{max} ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	3000	5000	3000	1500

Când nu este posibilă analiza unor specii chimice, direct, din cauza lipsei culorii acestora, se pot provoca reacții care dau compuși colorați, prin apariția unor *grupări cromofore*, pe baza cărora se pot analiza anumite substanțe în prezența altora, realizându-se astfel, pe cale chimică, o selectivitate metodei.

Dacă un anumit compus nu absoarbe în domeniul vizibil, dar în urma unei reacții chimice, se introduce în moleculă o grupare cromoforă, în noua substanță, această grupare va absorbi lumina, în vizibil sau UV şi va putea fi analizată cantitativ. Această reacție este o *reacție de culoare*. Când reacția de culoare este ea însăşi una selectivă reacția poate servi şi la identificarea calitativă a compusului incolor.

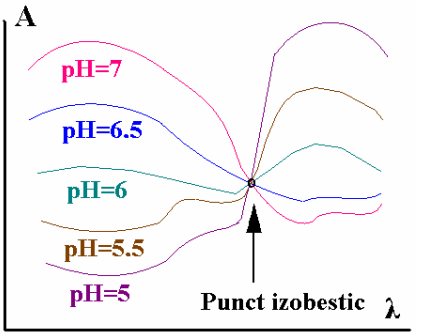


Fig. 9. Aspectul punctului izobestic în cazul unui indicator acid-bazic

Punctul izobestic, sau de egală absorbanță (fig. 9) este punctul de intersecție a unei familii de curbe de absorbție ale aceleiași substanțe, în condiții fizice sau de mediu diferite (de exemplu la mai multe valori ale pH-uri diferite) și semnalează existența a două specii chimice diferite, aflate în echilibru chimic una cu cealaltă - indiferent de tipul reacției chimice ce are loc. Numărul de puncte izobestice reprezintă numărul de specii chimice, aflate în echilibru între ele, fiecare absorbind lumina la lungimi de undă diferite. Lungimea de undă izobestică este valoarea λ pentru care coeficientul molar de extincție, ε, este egal pentru ambele componente și fie M, respectiv N, aceste componente. Algebric, acest lucru se reflecta în expresia absorbanței la lungimea de undă respectivă (λ):

$$A_\lambda = \varepsilon([M] + [N])l,$$

unde l este lungimea celulei; cum concentrația lor globală este aceeași, fiind dată de suma:

$$C = [M] + [N] = \text{const.},$$

absorbanța la punctul izobestic (λ), va fi:

$$A_\lambda = \varepsilon \cdot l \cdot C,$$

adică tot o constantă.

Instrumentația

Așa cum s-a arătat, orice spectrofotometru reprezintă o reuniune de 4 părți componente distincte: *(1) sursa, (2)sistemul dispersiv sau monocromatorul, (3) detectorul şi (4) înregistratorul*. Ultimul, poate fi un simplu dispozitiv de citire a rezultatului înregistrarea făcându-se manual. Există o gamă foarte largă de spectrofotometre, deosebirea constând în domeniul de lungimi de undă acoperit, în puterea de dispersie a monocromatorului, în natura detectorului, în mediul optic traversat sau chiar în principiul de construcție al instrumentului în ansamblu.

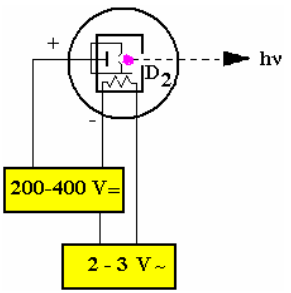


Fig. 10. Schița de principiu a unei lămpi cu deuteriu (D_2). Pata de culoare cenuşie indică punctul în care are loc descărcarea

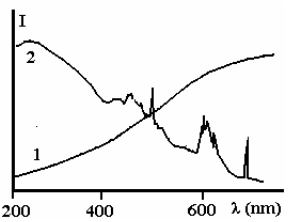


Fig. 11. Curbe reprezentând spectrele emise de cele doua tipuri de lampi utilizate în UV-VIS:1- Lampa cu filament incandescent de W; 2- Lampa cu deuteriu

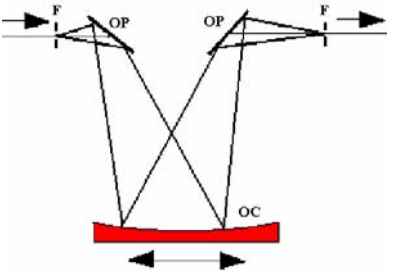


Fig. 12. Parcursul luminii într-un monocromator cu rețea concavă şi sensul de deplasare a rețelei pentru selecția lungimii de undă. F = fante, OP = oglinzi plane, OC = oglindă concavă

Sursele luminoase cele mai obişnuite utilizate în domeniul UV-VIS, sunt *lampa cu incandescență* prevăzută de obicei cu filament incandescent de W - deosebindu-se de becurile electrice obişnuite prin aceea că zona de ieşire a radiației este confecționată din sticlă de cuarț - şi *lampa cu deuteriu* prevăzută cu arc de descărcare în deuteriu, aflat la o presiune medie (ceea ce asigură un spectru continuu). O astfel de lampă, a cărui punct de descărcare este zona cenuşie din interiorul cutiei mari (fig. 10) permite obținerea unui spectru continuu pe domeniul 160-400nm, care se completează foarte bine cu spectrul beculuiu cu incandescență (fig. 11). Un spectrometru prevăzut cu ambele surse, poate acoperi tot domeniul UV-VIS (fig. 11). Razele de lumină trec prin aer, dar mai nou dirijarea acestora se face şi prin fibre optice.

Sistemul dispersiv sau monocromatorul poate fi, în vizibil, un filtru colorat din sticlă sau material plastic transparent dar şi un filtru cu interferență, iar în UV-VIS o prismă confecționată din cuarț sau, în ultimul timp, sisteme bazate pe rețele plane sau concave cu circa 1200 trăsături per mm. Aceste rețele sunt integrate în monocromatoare care permit extragerea unei zone înguste din spectrul UV-VIS, printr-o simplă deplasare a oglinzii (fig. 12).

Lățimea domeniului spectral care trece prin monocromator depinde mult de lățimea fantelor de intrare şi ieşire. Cele mai bune rezoluții se obțin prin utilizarea unor oglinzi prevăzute cu distanțe focale mari (0.2-0.5m).

Detectorul transformă semnalul luminos în semnal electric. Acest dispozitiv dă aşadar un semnal proporțional cu intensitatea care iese din celula de măsură. Intensitatea semnalului recepționat va depinde de lungimea de undă - deci de lungimea de undă selecționată prin poziția oglinzii - dar şi prin deschiderea fantelor de intrare, respectiv de ieşire, din monocromator. Acestea din urmă, limitează domeniul spectral dar şi intensitatea luminii, în ansamblu. De aceea fiecare modificare de deschidere a fantelor sau de lungime de undă modifică şi intensitatea măsurată de spectrofotometru.

De-a lungul timpului s-au impus două tipuri de detectori: tuburile fotomultiplicatoare şi dispozitivele semiconductoare (care pot fi, la rândul lor, detectori cu transfer de sarcină - CCD , în l. engl.- sau fotodiode cu siliciu - CID). *Fotomultiplicatoarele* - nişte dispozitive ultrasensibile al cărui domeniu liniar se întinde pe 7 decade - au fost până nu demult cele mai utilizate dintre acestea. Pentru spectrofotometrele de rutină, fotodiodele sunt cele mai utilizate. În ultimul timp au apărut *detectoarele cu rețelele de diode* care constituie de fapt nişte diode de dimensiuni mici înşirate pe aceeaşi placă. În acest caz nu mai este nevoie de fanta de ieşire, ceea ce a simplificat întrucâtva instrumentația (fig. 13).

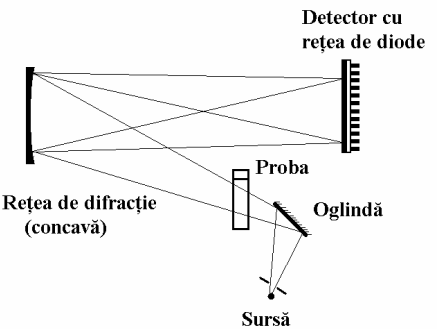


Fig. 13. Reprezentarea schematică a unui spectrofotometru cu rețea de diode

Sursă	→	Monocromator	→	Proba	→	Detector
1		2		3		4

Fig. 14. Schema bloc a unui spectrofotometru monocanal. Prin probă (nr. 3) se înțelege atât proba de analizat cât şi cea de referință

Spectrometrele monocanal, a căror schemă bloc este prezentată în fig. 14, sunt cele mai utilizate în aplicațiile de rutină. De regulă în calea razei incidente se plasează succesiv proba martor sau de referință (care conține solventul plus eventual reactivii necesari pentru analiză) şi proba de analizat. Pentru a se compensa şi variațiile sursei luminoase se utilizează,

la instrumentele ceva mai sofisticate, sisteme *split-beam* bazate, de exemplu, pe o oglindă semitransparentă (v. fig. 15).

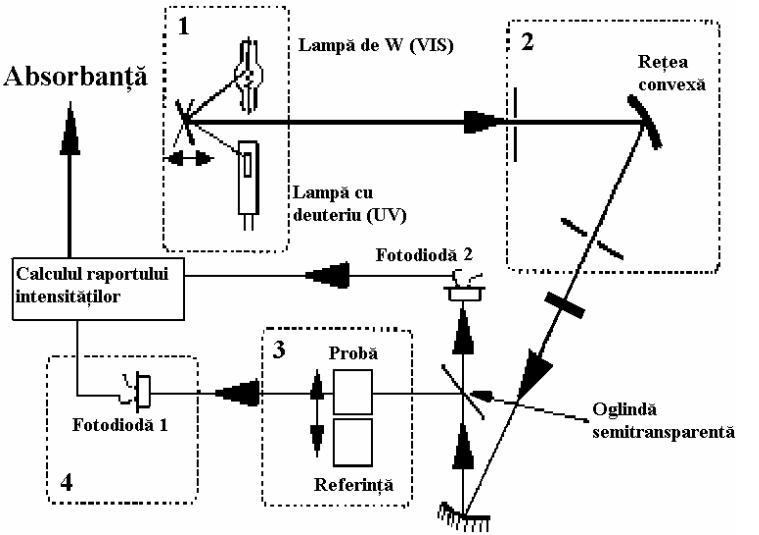


Fig. 15. Prezentarea schematică a unui spectofotometru UV-VIS, monocanal, cu sistem split-beam; componentele principale sunt: 1- sursă, 2 - monocromator, 3 - probă, 4 - detector

Din această categorie face parte şi spectrometrul cu rețea de diode (fig. 13) care are avantajul că permite recepția simultană a întregii game spectrale într-un interval de timp de câteva milisecunde. Deosebirea constă doar în ordinea probă-monocromator care-şi schimbă locul între ele. Rezoluția acestor spectrometre este limitată de dimensiunile microdiodelor care țin locul fantelor de ieşire.

În sistemele cu dispozitive *split-beam*, raza care iese din monocromator este despărțită în două şi una dintre aceste raze cade pe un detector care preia fondul (de exemplu, o fotodiodă 1 pe fig. 15), iar cealaltă, după ce trece prin probă (respectiv prin proba martor), cade pe un al doilea detector, notat 2 (fig. 15). Semnalul final rezultă prin diferența dintre semnalele date de cele două detectoare şi prelucrat pentru a se măsura (sau înregistra) direct absorbanța. Pe figura alăturată se poate observa funcționarea alternativă a lămpii pentru domeniul vizibil (VIS) cu cea pentru domeniul UV.

Spectrometrele bazate pe comparație (cu dublu canal) sunt cele mai performante spectrofotometre cunoscute. În acestea, după despărțirea razei incidente, monocromatice în două fascicule, una dintre acestea traversează proba iar alta, simultan sau secvențial, traversează celula de referință care conține proba martor. Se cunosc cel puțin două variante de astfel de montaje. În una dintre acestea (fig. 16), montajul foloseşte pentru despărțirea fascicolului metoda amintită anterior, în cazul spectrometrelor monocanal - oglinda semitransparentă - iar detectoarele (două fotodiode) sunt montate în opoziție. Avantajul

constă în faptul că răspunsul detectorului este menținut constant, în funcție de λ, prin reglarea automată a intensității de intrare în monocromator (printr-un mecanism de *feed-back*).

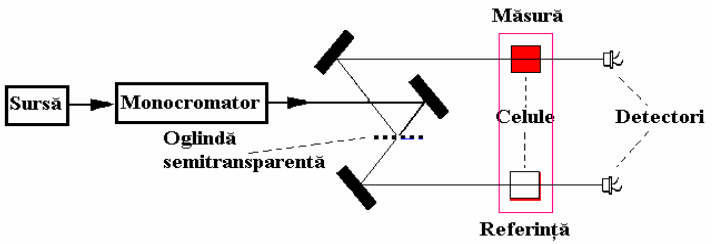


Fig. 16. Schema de principiu a spectrofotometrului cu dublu fascicol prevăzut cu oglindă semitransparentă şi fotodiode

O altă variantă (fig. 17) foloseşte pentru despărțirea razei incidente, monocromatice, un disc rotitor prevăzut cu o oglindă în formă de sector de cerc (dispozitiv denumit curent în literatura de specialitate *chopper* [*76*]). O jumătate de perioadă oglinda reflectă raza incidentă iar în cealaltă jumătate, o transmite. Aşadar, una dintre raze trece prin celula de măsură iar cealaltă prin cea de referință, fiind ulterior aduse prin montajul optic pe acelaşi detector - de astă dată un fotomultiplicator. Faptul că are loc amplificarea unui singur semnal compensează micile variații parazite ale intensității sursei. Circuitul de măsură funcționează sincron cu rotația *chopper*-ului; o perioadă semnalul corespunde celulei de măsură iar o altă o perioadă, celei de referință.

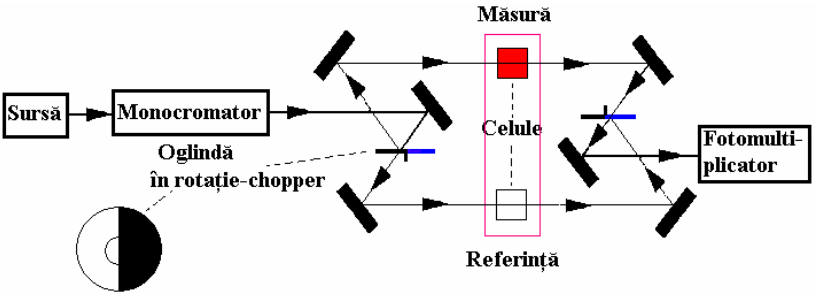


Fig. 17. Schema de principiu a spectrofotometrului cu dublu fascicol prevăzut cu chopper şi fotomultiplicator

Aceste spectrofotometre se caracterizează printr-o viteză mare de baleiaj şi prin aceea că pot măsura mai mult de două unități de absorbanță.

[76] din l. engl., *to chop* - a tăia în bucăți sau a toca, respectiv *chopper* - mașină de tocat

Spectrometria fotoacustică

O variantă indirectă a spectrometriei de absorbție nu măsoară lumina absorbită de către probă ci schimbarea stării termice a acesteia în urma procesului de absorbție. În fond este tot o măsurătoare indirectă a luminii absorbite, cu singura deosebire că mărimea măsurată nu este una optică.

Modificarea ce are loc în probă nu este doar termică, ci termodinamică, adică sunt implicați toți parametrii legați de temperatură, de exemplu, presiunea sau densitatea probei. Metodele fotoacustice fac apel tocmai la modificările de presiune sau de densitate ale probei ca urmare a absorbției luminii. De aceea nu are importanță dacă gazul, lichidul sau solidul supus măsurătorii provoacă o modificare a direcției luminii din drumul optic, de exemplu conține neomogenități sau particule opace (fum, ceață, pulberi în suspensie etc.), precizia metodei rămânând neafectată.

Deși, în principiu, se poate utiliza orice sursă luminoasă UV-VIS sau IR, în zilele noastre, sursele preferate au devenit laserele. Motivele principale sunt două:

÷ Semnalul fotoacustic, într-o primă aproximație, este proporțional cu creșterea de temperatură a probei, deci depind de energia absorbită, respectiv de pulsul de energie primit de către aceasta (ori laserele asigură intrarea unei mari cantități de energie).

÷ Pentru multe aplicații, selectivitatea metodei depinde de lărgimea domeniului de lungimi de undă al sursei (de monocromaticitatea acesteia), iar laserele au acest domeniu extrem de îngust.

Denumirea *foto-acustică* provine şi de la faptul că modulația sau frecvența pulsurilor radiației laser incidente este reglată în aşa fel încât să cadă în domeniul acustic. În acest fel, folosindu-se metodele de amplificare specifice semnalelor acustice, s-a reuşit obținerea unor raporturi semnal-zgomot remarcabile şi performanțe analitice pe măsură. Principalele etape care se parcurg în orice instrument de spectrometrie fotoacustică sunt prezentate în fig. 18.

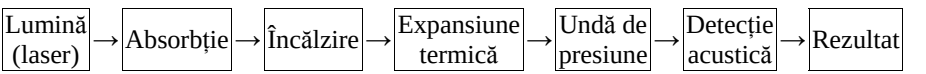


Fig. 18. Schema-bloc a transmiterii informației în spectrometria fotoacustică

Cu ajutorul acestei tehnici, soluțiile de coloranți pot fi analizate *pe domenii liniare de circa 10 ori mai largi decât măsurând absorbanța optică* la aceeaşi lungime de undă (de ex. la 523nm [77]) şi s-au pus la punct metode pentru analiza fumului rezultat din motoarele Diesel (lucrându-se la 800nm). De asemenea, s-a mai constatat că semnalul creşte liniar cu energia pulsului de energie a radiației laser.

[77]Haisch C., Niessner R., *Light and sound – photoacoustic spectroscopy*, Spectroscopy Europe, 14(5), p. 10-15, 2002.

Întrebări de verificare

1. Prin ce se aseamănă instrumentele din domeniile UV şi VIS?
2. Ce este transmitanța, absorbanța şi care este relația dintre acestea?
3. Scrieți una din formele legii lui Lambert-Beer.
4. Ce componente are un spectrofotometru monocanal simplu?
5. Metodele colorimetrice sunt recomandate pentru soluții concentrate sau diluate?
6. Prin ce se deosebesc metodele spectrofotometrice de cele colorimetrice?
7. Care este caracteristica calitativă şi care este cea cantitativă, în cazul unui spectru de absorbție?
8. Ce condiții trebuie îndeplinite pentru o analiză cantitativă corectă?
9. Când se poate aplica legea lui Lambert-Beer pentru analiza a două componente diferite din aceeaşi soluție?
10. Descrieți ce este un punct izobestic şi explicați de ce apare acesta pe o familie de curbe de absorbție la aceleaşi coordonate (A, λ).
11. Ce este o grupare cromoforă şi care este rolul său în determinarea maximelor de absorbție?
12. Care sunt cele mai răspândite tipuri de spectrometre de absorbție?
13. Ce dispozitive servesc la separarea celor două raze în spectrofotometrele cu dublu fascicol?
14. Ce variantă a spectrometriei de absorbție este adecvată pentru soluții concentrate şi chiar pentru cele tulburi?

Toate modelele sunt greşite; unele sunt folositoare
George E. P. Box, statistician american [78]

Spectrometria de absorbție în IR

Introducere

Domeniul infraroşu (IR) al spectrului undelor electromagnetice conține radiații cu lungimi de undă cuprinse între 0.8 şi 1000µm. La ora actuală se cunosc şi se aplică un grup de metode de analiză chimică care valorifică semnalele obținute prin absorbția radiațiilor din acest domeniu. Domeniul amintit, poate fi divizat la rândul său în trei subdomenii: *IR-apropiat* (între 0.8 şi 2.5µm), *IR-mediu* (între 2.5-25µm) şi *IR-îndepărtat* (peste 25µm). Domeniul mediu se mai numeşte şi *IR fundamental*. Acesta este cel mai bogat în informații şi cel mai accesibil experimental. În vorbirea obişnuită este domeniul IR care serveşte în mod curent atât pentru analiza chimică cât şi pentru recunoaşterea calitativă a combinațiilor anorganice, organice sau naturale dar şi în determinări de structură chimică. Domeniul IR apropiat, destul de sărac în benzi de absorbție specifice anumitor legături, are o importanță mare tocmai în aplicații cantitative ale lichidelor. Domeniul IR îndepărtat este încă în studiu.

Ca şi în alte domenii ale spectrometriei, în IR se determină *transmitanța* dată de raportul intensităților transmise, I, respectiv incidente, I_0, adică:

$$T = \frac{I_0}{I} \quad (T<1). \tag{1}$$

Se mai poate exprima *transmitanța procentuală*: T% = 100·T sau *absorbanța*, A, definită de:

$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right) \tag{2}$$

Spectrul IR al unei substanțe este adesea o reprezentare grafică, în coordonate (T, $\overline{\nu}$) unde cu $\overline{\nu}$ s-a notat *numărul de undă* [79] dat de ecuația:

$$\overline{\nu} = \frac{1}{\lambda} \tag{3}$$

Pe acest grafic de disting mai multe maxime mai înguste - linii - sau mai largi - benzi. Pe axa ordonatelor, în loc de T poate apărea T% sau A - absorbanța - dar în mod obişnuit se utilizează numărul de undă în cm^{-1} (sau Kaysers) din necesitatea de a nu se apela la numere atât de mari ca frecvențele - exprimate în Hz - sau lungimile de undă - exprimat în nm.

[78] http://www.engr.wisc.edu/ie/faculty/box_george.html

[79] *numărul de undă* (notat uneori şi $\tilde{\nu}$) se exprimă prin relația $\overline{\nu} = \nu/C$ unde ν este frecvența iar C viteza luminii; se observă că $\overline{\nu}$ este proporțional cu frecvența.

Există la ora actuală o diversitate de metode de analiză bazate pe spectrele IR. Astfel există spectrometre bazate pe dispersie după lungimea de undă, sau bazate pe transformata Fourier, diverse analizoare industriale simple, nedispersive - ultimele specializate doar pe anumite combinații chimice - precum și spectrometre de proces care fac analize, în mod continuu, pe anumite linii tehnologice de gaze sau lichide. În fine, există spectrometre IR portabile care permit analiza unor poluanți ai mediului.

Absorbția în IR se datorește interacțiunilor dintre radiația electromagnetică incidentă *și anume componenta electrică a acesteia*, cu dipolii electrici ai unei molecule. Se admite astăzi că energia radiațiilor IR provoacă o amplificare a energiei de vibrație a moleculelor datorită faptului că *dipolul corespunzător legăturii oscilează cu o frecvență apropiată cu cea a componentei electrice amintite*. Amintim că într-o moleculă, în mod natural, atomii componenți execută mișcări de vibrație de-a lungul legăturii în timp ce molecula se rotește. O intensificare a mișcării de vibrație duce la o alungire și simultan, la o slăbire a legăturii dar și la o intensificare a mișcării de rotație. În acest fel se explică de ce, în absența oricărui dipol permanent, nu apare nici un cuplaj cu unda electromagnetică și nu are loc nici o diminuare a intensității radiației IR incidente. Sau, altfel spus, *gazele monoatomice (gazele rare) și substanțele cu moleculele simetrice (ca de exemplu O_2, N_2, Cl_2), având legături nepolare, sunt perfect transparente la radiațiile din domeniu IR*. În moleculele poliatomice posibilitățile de apariție ale spectrelor IR sunt mai mari deoarece aici vibrațiile asimetrice pot duce, chiar în moleculele nepolare, la apariția unor dipoli electrici, iar posibilitățile de apariție ale unor vibrații de deformare (de modificare a unghiurilor dintre legături în afara celor de alungire) se măresc.

Pe de altă parte, intensitatea unei benzi de absorbție în IR este proporțională cu pătratul variației momentului dipolar al moleculei, datorită absorbției. Se știe că în general grupele polare (C-O, C=O, C-Br etc.) generează benzi de absorbție mai intense decât cele slab polare (C-N, C=N, C-H etc.).

Se mai știe din studiul fizic al spectrelor că energia mecanică totală, a unei molecule izolate, poate fi aproximată [80] printr-o reuniune de trei termeni (toți cuantificați) - corespunzând energiilor de rotație, de vibrație și a electronilor de legătură - care se poate reda prin ecuația:

$$E_{TOT} = E_{VIB} + E_{ROT} + E_{ELEC}$$

Despre mișcarea de vibrație am amintit câte ceva în aliniatele precedente. Energia de rotație se referă la rotația moleculei în jurul centrului de greutate și valorile cu care variază

[80] În afară de cei trei termeni amintiți, mai există *energia mișcării de translație* (necuantificată) și *energia nucleelor*. Doar termenii amintiți sunt însă importanți pentru producerea spectrelor optice.

această energie sunt cu mult mai mici decât în cazul vibrației, care la rândul ei este mai mică decât cea a electronilor de legătură. Aceştia din urmă interacționează în special cu radiația din domeniul UV-VIS. Cei trei termeni, care apar adesea simultan în spectre, sunt foarte diferiți ca valoare energetică şi se poate considera că cei trei variază independent unii de alții. Această aproximație este posibilă pe baza teoremei Born - Oppenheimer, care permite o abordare simplificată a problemei [81].

Mişcarea de vibrație a unei legături dintr-o moleculă poate să fie asimilată unei deplasări asemănănătoare cu un arc spiral - situat în direcția legăturii. Mişcarea ritmică a acestuia, de-a lungul legăturii, duce la creşterea, respectiv scurtarea distanței interatomice. Totodată, poate să ia şi aspectul unei deformări (sau *îndoiri*) a legăturii, care implică deplasarea atomilor în afara axei dintre aceştia. Numărul mare de legături duce implcit la un număr mare de benzi.

Amintim de asemenea, că *experimental nu s-au observat spectre de linii pentru compuşi în fazele condensate* (lichidă sau solidă), în schimb sunt frecvente astfel de linii în fază gazoasă. Motivele sunt tocmai *interacțiunile dipol-dipol*, dintre molecule aflate în fază condensată, precum şi solvatarea reciprocă între acestea, lucru care implică, foarte probabil, perturbații ale nivelelor energetice ale legăturilor chimice individuale. Pe de altă parte, lărgirea unei linii este invers proporțională cu durata stării excitate. Această durată fiind mai scurtă în stările condensate, liniile spectrale IR ale lichidelor şi solidelor se lărgesc suplimentar, predominând benzile de absorbție.

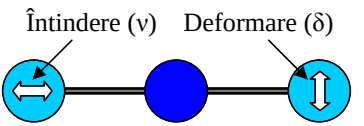


Fig. 1. Cele două tipuri de vibrații a unei legături covalente polare implicate în absorbție IR

[81] Conform acestei teoreme deplasarea electronilor are loc independent de deplasările nucleelor.

Bazele fizice ale spectrometriei IR

Modelul fizic acceptat, pentru a se putea reproduce teoretic vibrațiile legăturii covalente dintr-o moleculă, se numeşte *modelul oscilatorului armonic*. Acesta constă dintr-un ansamblu de două mase, care se pot deplasa, fără frecare în acelaşi plan - mase simbolizând atomii - fiind legate între ele printr-un arc elastic. În conformitate cu *legea lui Hooke* [82], tăria arcului este caracterizată de o constantă de forță, k (exprimată în $N \cdot m^{-1}$) simbolizând energia (în Newtoni) necesară pentru a mări distanța dintre cei doi atomi cu 1m față de poziția de echilibru. Termenul de oscilator armonic provine de la faptul că elongația este proporțională cu forța exercitată, dar frecvența, ν, este independentă de aceasta. Relația admisă pentru frecvența de vibrație a oscilatorului armonic este:

$$\nu_{VIB} = \frac{1}{2\pi} \cdot \sqrt{\frac{k}{\mu}} \qquad (4)$$

unde k este constanta de forță amintită iar μ este masa redusă:

$$\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2} \qquad (5)$$

În consecință, fiecare moleculă biatomică are o constantă de forță specifică.

Însă energia absorbită prin vibrație în loc să fie $E_{VIB} = V \cdot h\nu$, ca în emisie, din cauză că în cazul sistemelor atomice şi moleculare se respectă legile cuantificării (introduse prin mecanica cuantică [83]), ecuația admisă teoretic pentru energia de vibrație este:

$$E_{VIB} = h\nu\left(V + \frac{1}{2}\right) \qquad (6)$$

unde cu V s-a notat *numărul cuantic de vibrație* (care ia valori întregi: V = 0, 1, 2, 3, …, n). Ca rezultat, energiile asociate mişcării oscilatoare de vibrație pot lua doar acele valori pentru care este satisfăcută ecuația de mai sus. Pentru V = 0 există o *energie a punctului zero*, $E_{VIB} = h\nu/2$. Față de acest punct, se obțin o serie de nivele numite excitate trecându-se de la V = 0 la V = 1, care poartă numele de *vibrație fundamentală* iar apoi la V = 2, 3, ... când apar *armonicile superioare*.

Energiile implicate în mişcarea de vibrație a moleculelor sunt suficient de mari pentru ca agitația termică să nu afecteze starea de energie vibrațională în sensul apariției vreunei excitări. *De aceea la temperatura camerei este populat, practic, doar nivelul fundamental* (cel pentru V = 0).

---

[82] *Legea lui Hooke* se referă la oscilația unui resort elastic şi se exprimă: F=k·x unde k este o constantă de forță iar x distanța sau elongația deplasării.

[83] În mecanica cuantică soluțiile matematice apar prin rezolvarea ecuației lui Schrödinger iar soluțiile prezentate în diferite lucrări reprezintă aproximații plauzibile.

Cele mai frecvente tranziții de vibrație permise de *regulile de selecție* ale numărului cuantic de vibrație ($\Delta V = \pm 1$) sunt aşadar cele de la V = 0 (notat V_0) la V_1 [84]. Dacă dorim o explicație, cauza ar fi aceea că singurul nivel populat fiind cel fundamental, tranzițiile pleacă de la acest nivel oprindu-se, cu maximă probabilitate, la nivelul următor (V = 1). Astfel se constată experimental că benzile corespunzătoare armonicelor superioare, deşi teoretic posibile, au intensități foarte mici.

Dar din păcate vibrațiile moleculelor nu sunt perfect armonice. De aceea forma curbei energiilor, la o observare mai riguroasă, nu este o parabolă, ca în cazul ideal (fig. 2) iar *distanțele dintre nivelele energetice de vibrație nu sunt egale*. De aceea a fost necesară introducerea unui nou model, mai apropiat de perfecțiune - *modelul oscilatorului anarmonic*. Acest model are ca rezultat o expresie matematică, denumită *ecuația lui Morse*:

$$E_{VIB} = h\nu\left(V+\frac{1}{2}\right)-\frac{h^2\nu^2}{4D}\left(V+\frac{1}{2}\right)^2 \qquad (7)$$

unde V este tot numărul cuantic de vibrație iar D reprezintă energia de disociere a moleculei, ΔE(fig. 8.3).

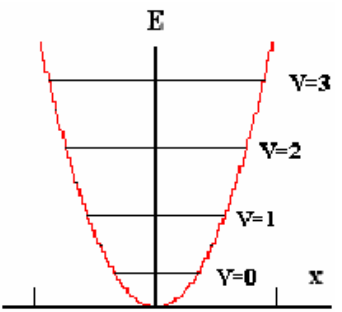


Fig. 2. Reprezentarea variației energiei şi pozițiile nivelelor de vibrație admițând modelul oscilatorului armonic

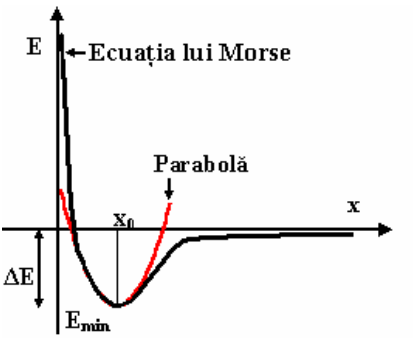


Fig. 8.3. Variația energiei în cazul acceptării modelului oscilatorului anarmonic

S-a discutat până în prezent despre modificarea energiei de vibrație prin absorbție. Simultan are loc însă şi o modificare a energiei de rotație. Doar în IR îndepărtat şi în domeniul microundelor, la substanțe în fază gazoasă, poate fi observată o absorbție de energie asociată cu modificarea doar a regimului de rotație. În regiunea IR fundamental (2.5-25μm sau 667-4000cm^{-1}) *se întâlnesc doar acele modificări ale energiei de rotație care însoțesc tranzițiile vibraționale*. Acestea poartă de aceea numele de *spectre de vibrație-rotație.*

[84] Regulile de selecție au fost la început impuse de constatările experimentale. În ultimul timp, aceste reguli au o fundamentare teoretică (mecanic-cuantică) şi nu mai sunt absolute. Adică chiar *tranzițiile interzise* din vechile reguli, devin tranziții cu o probabilitate mică şi corespund unor linii de intensitate scăzută.

S-a constat experimental că *nivelele energiei de rotație* nu pot lua orice valori ci doar anumite valori, potrivit unui număr cuantic rotațional, *j*. Ecuația admisă pentru energia de rotație este:

$$E_{ROT} = \frac{j}{j(j+1)} \cdot \frac{h^2}{8\pi^2 I} \qquad (8)$$

unde *j* este numărul cuantic de rotație, I - momentul de inerție al moleculei iar h - constanta lui Planck. Aceste mișcări se pot observa bine la gaze. La lichide şi solide amorfe mișcările de rotație nu pot fi tratate ca mărimi cuantificate, dată fiind frecvența ciocnirilor moleculare. La solidele cristaline rotația nu este, de regulă, posibilă.

Variațiile energiei de rotație sunt cu mult mai mici decât ale celei de vibrație şi în consecință nivelele energetice de rotație, pentru aceeaşi stare a energiei vibraționale, au valori extrem de apropiate. Dar pentru fiecare nivel de vibrație există mai multe nivele de rotație. Un tablou complet al tranzițiilor energetice posibile trebuie să combine cele două tipuri de nivele (fig. 4). Se poate remarca pe diagrama 4-c că variația energiei de vibrație este hotărâtoare în ceea ce privește poziția benzii în spectrul IR.

Regulile de selecție pentru tranzițiile de rotație, observate în spectrele IR, sunt $\Delta j = 0$ şi $\Delta j = \pm 1$, pentru moleculele poliatomice, şi $\Delta j = \pm 1$ pentru cele biatomice. Aceleaşi reguli rămân valabile şi pentru tranzițiile de vibrație-rotație combinate - cazul cel mai frecvent întâlnit. De aceea, *benzile IR sunt benzi cu structură fină*, cărora de cele mai multe ori li se înregistrează doar conturul combinat (sau înfăşurătoarea). În stare gazoasă această structură iese pregnant în evidență iar în acest domeniu analizele IR au posibilitățile cele mai mari de aplicare practică.

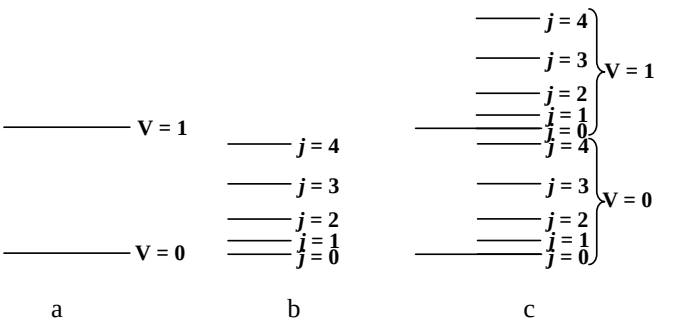


Fig. 4. Reprezentarea schematică a nivelelor: de vibrație (a) a poziției relative pentru cele de rotație (b) şi a dispunerii nivelelor de vibrație-rotație suprapuse, formate din a + b (c)

Analizând mai atent *structura fină a spectrelor de vibrație-rotație*, se poate observa că acestea sunt compuse din trei tipuri de benzi care formează aşa-numitele *ramuri P, Q şi R* ale unui maxim din spectrul de absorbție în IR. Astfel s-a constatat că există tranziții în care se

modifică doar starea de vibrație (de la V = 0 la V = 1) în timp ce valoarea numărului cuantic de rotație *j* rămâne aceeași. Astfel de tranziții dau toate o singură frecvență în spectrul de absorbție, notată cu Q, a cărei explicație (origină) este redată punctat pe fig. 5.

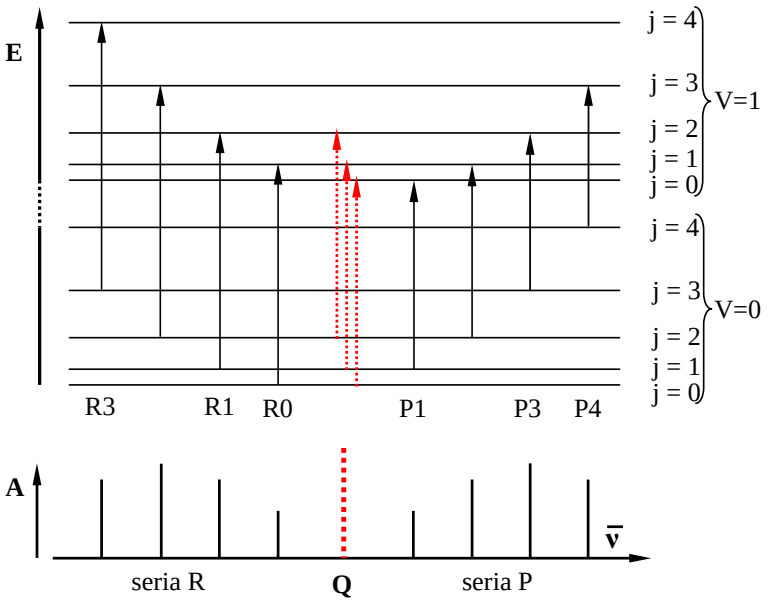


Fig. 5. Explicarea apariției seriilor R , P şi a liniei Q ale structurii fine a spectrelor de vibrație-rotație datorate regulilor de selecție

De aceea această bandă este cea mai intensă şi apare doar la moleculele poliatomice *dar nu există de loc la cele biatomice, fiind interzisă*. În cazul tranzițiilor în care variază numărul cuantic de rotație (de exemplu, de la $j_{(V=0)}$=1 la $j_{(V=1)}$=2, deci Δj = +1) apar o serie de linii de absorbție cu frecvențe mai mari decât *frecvența Q* - notate în ordinea crescătoare a ΔE cu R_0, R_1, R_2, … (chiar dacă nivelele nu sunt echidistante). Totalitatea acestora formează *seria R* a benzii. În fine, există tranziții în care starea de rotație scade cu o unitate (de exemplu, de la $j_{(Vo)}$=1 la $j_{(V1)}$= 0, deci Δj = -1) care alcătuiesc *seria P* a benzii spectrale - toate având frecvențe mai joase - care se notează în ordine descrescătoare a ΔE cu P_1, P_2, P_3, … . Pe fig. 5 se prezintă schematic corespondența dintre tranzițiile de absorbție şi liniile structurii fine a spectrelor de vibrație-rotație în coordonate absorbanță - număr de undă.

Prezentăm mai jos, pentru exemplificare, spectrul IR al metanului gazos (fig. 6) care ilustrează convingător existența celor trei ramuri P, Q şi R ale unei benzi, care corespund doar vibrațiilor C-H asimetrice.

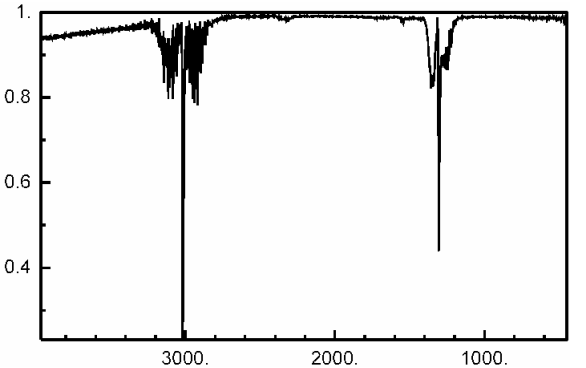


Fig. 6. Spectrul IR al metanului (Transmitanța relativă vs. Numărul de undă)

Aparatura

Primele instrumente comerciale pentru domeniul IR au apărut încă din anii 1940. Diversitatea extraordinară de aparate utilizate astăzi în cele mai diferite domenii se poate împărții în trei categorii:

÷ *Fotometre nedispersive* bazate pe filtre simple formate uneori chiar din gazele de analizat. Aceste pot fi monocanal sau comparative.

÷ *Spectrometre bazate pe dispersia luminii* (folosind prisme sau monocromatoare bazate pe difracție și interferență) și care pot fi prevăzute cu două canale sau monocanal (cu sau fără chopper).

÷ *Spectrometre bazate pe transformata Fourier*, care permit intrarea în celulă a întregului domeniu spectral și care sesizează interferometric liniile caracteristice de absorbție. Aceste instrumente, datorită unei rezoluții mai bune și a rapidității, datorate cuplării cu calculatorul, în ultimul timp au devenit preferate.

Fotometrele nedispersive

Chiar dacă nu permit obținerea unor spectre de absorbție, deci sunt inutile în ceea ce privește analiza calitativă, aceste aparate servesc doar pentru analize de amestecuri dinainte cunoscute (de exemplu CO, CO_2 sau H_2O, D_2O) în procese industriale sau controlul mediului. Aceste analizoare sunt robuste, ușor de utilizat și ieftine. Se pot analiza astfel sute de soluții formate din mai multe gaze sau lichide în controlul tehnologic sau al mediului ambiant.

Un exemplu de aplicație de acest tip este analizorul de CO și CO_2 din gazele de eșapament ale automobilelor - prezent practic în orice service auto. Acestea măsoară absorbanța la 2170cm^{-1} în cazul CO și la 2350cm^{-1} în cazul CO_2. Una dintre numeroasele variante ale acestui analizor este cel prezentat în fig. 7.

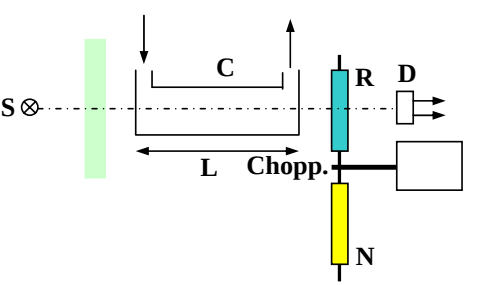


Fig. 7. Schema de principiu a unui analizor IR nedispersiv

Gazul circulă prin celula C, de lungime L, având concentrația necunoscută. Lumina de la sursa S, filtrată de filtrul F, parcurge celula și cade pe detectorul D. Celula de referință, R, este umplută cu gazul de analizat într-o concentrație cunoscută iar celula de nul, N, este

umplută cu azot (N_2 - care nu absoarbe în IR). Prin rotirea chopper-ului (Chopp.), de către motorul M, cu o frecvență sincronă cu alternanța circuitului de măsură, la detector vor ajunge, pe rând, semnalul cu, şi fără, absorbția substanței de referință. Evident, pe discul chopper-ului se pot monta mai multe celule de referință şi filtre (până la 6). Prin prelucrarea semnalului detectorului, în conformitate cu metoda adaosului standard, se poate evalua concentrația necunoscută.

Spectrometre bazate pe dispersie

Cu excepția celor destinate IR - apropiat unde componentele spectrometrului: sursa, mediul optic, celula sau detectorii sunt asemănătoare cu cele pentru domeniul UV-VIS, în spectrometria IR apar componente din materiale diferite de primele. *Deosebirea majoră este aceea că monocromatorul este aşezat după celulele cu probe*.

Componente ale instrumentației în IR

Sursele de radiație IR sunt becul cu filament de W (pentru IR apropiat), tuburile Nernst, lămpile Globar şi filamentele Nicrom toate trei pentru IR fundamental şi lămpile cu mercur la presiune ridicată pentru IR îndepărtat.

Tuburile Nernst constau din rezistențe formate din tubuşoare cu diametru de 2mm şi 30cm lungime confecționate din amestecuri de oxizi ai pământurilor rare (în special Y şi Er) plus ZrO_2. Domeniul spectral în care lucrează este 0.4-20μm.

Lămpile Globar (denumire comercială - GLOBAR™ care s-a încetățenit) sunt rezistențe care constau din nişte baghete de 4mm diametru având 50cm lungime, confecționate din SiC. Sunt mai fragile decât tuburile Nernst.

Spiralele din sârmă Nicrom sunt sursele cele mai puțin pretențioase. Stabile în timp, rezistente în aer acestea dau o temperatură mai scăzută şi, în consecință, au o putere de emisie mai slabă. Stratul de oxizi format pe suprafață asigură emisia radiației. Servesc drept surse în aparatele mai puțin pretențioase.

Monocromatoarele pentru IR sunt construite pe aceleaşi principii cu cele din domeniul UV-VIS şi pot fi cu prismă sau rețea. Un dezavantaj al acestora este acela că nu pot fi confecționate din acelaşi material pentru tot domeniul IR. Există materiale preferate doar pe anumite subdomenii ale IR-ului ca de exemplu: LiF (0.115-7μm), CaF_2 (0.125-10μm) BaF_2 (0.2-13.5μm), NaCl (0.2-17μm), KBr (0.2-26μm) sau CsI (1-40μm). De aceea se preferă selectarea cu prisme a unei porțiuni şi cu un monocromator se subîmparte domeniu pe subdomenii foarte înguste.

Detectorii utilizați în spectrometria de absorbție în IR sunt deosebiți de restul detectorilor folosiți în UV-VIS. Aceştia pot fi clasificați pe baza principiului care stă la baza funcționării în două grupuri:

÷ *Detectori cuantici* bazați pe efectul fotonilor asupra materialelor;

÷ *Detectori termici* care se bazează pe modificarea proprietăților fizice ale materialelor cu temperatura.

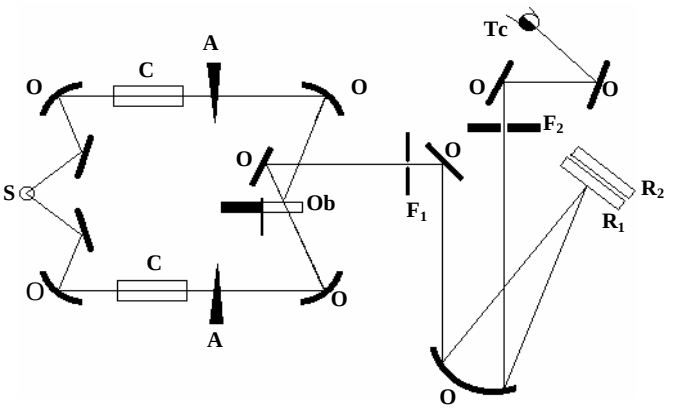


Fig. 8. Schema de principiu a unui spectrometru cu rețea. S - sursă, O - oglinzi, C - cuve, A - atenuatoare, F_1, F_2 - fante, R_1,R_2 - rețele, Tc - termocuplu

Din prima categorie amintim *detectorii fotovoltaici* care constau dintr-un film fotoconductor (de exemplu un compus HgCdTe) depus pe un suport inert. Pentru a avea o sensibilitate bună detectorul este menținut la temperatura azotului lichid.

Tot din această categorie amintim *detectorii piroelectrici* care constau din cristale plasate sub formă de sandwich între două armături plane din care una este transparentă. Sub efectul unei diferențe de potențial, cristalul se polarizează comportându-se ca un dielectric. Gradul de polarizare diferă în funcție de intensitatea radiației termice primite. Semnalul dat de detector este liniar pe tot domeniul iar inerția termică este redusă. Substanțele folosite cu succes în acest tip de detectori sunt sulfatul de triglicină deuterată (DTGS) sau tantalatul de litiu ($LiTaO_3$).

Dintre detectorii termici, cei mai folosiți în ultimul timp, amintim: termocuplurile, termorezistențele şi detectorii pneumatici.

Termocuplurile, sunt dispozitive care se bazează pe generarea unei tensiuni electrice într-un circuit conținând două joncțiuni identice, formate din metale diferite (prin topire locală). Cele două joncțiuni trebuie să se afle la temperaturi diferite (*efect Peltier*), condiții în care apare tensiunea amintită.

Termorezistențele sau bolometrele sunt alcătuite dintr-un conductor sau semiconductor care îşi modifică rezistența cu temperatura. Cele cu semiconductori se mai numesc şi termistori.

Detectorii pneumatici sunt termometre cu gaz foarte sensibile. Un astfel de detector constă dintr-o capsulă metalică (cilindrică) având un capăt închis cu o plăcuță metalică înnegrită iar la celălalt cu o plăcuță metalică flexibilă. Radiația IR căzând pe partea înnegrită, încălzind gazul din celulă, provoacă dilatarea acestuia. Ca urmare, gazul provoacă o deplasare a membranei flexibile datorită măririi volumului incintei. Mişcarea poate fi sesizată prin includerea acestei membrane flexibile într-un condensator care, la rândul lui, este inclus într-un circuit de măsurare a capacității.

Pregătirea probelor pentru analiză

Analiza prin spectrometrie de absobție în IR se poate aplica pentru gaze, lichide sau solide. Gazele se introduc în niște celule speciale unde proba se introduce cu precauțiile necesare (clătire, evacuarea gazului precedent, vidare) sau prin diluare în aer. Lungimea acestor celule de gaz este mărită prin reflexii repetate (cu oglinzi) ajungându-se la 5-20m în spații de 0.5m.

Lichidele pot fi studiate ca atare sau sub formă de soluții. Dacă sunt prea volatile, lichidele se pot analiza punând o picătură între două discuri, perfect șlefuite, confecționate din cristale de NaCl, care ulterior se presează una de alta și se prind într-o ramă înainte de introducerea în spectrometru. Soluțiile cu concentrații între 0.05-10% se introduc în celule de grosimi 0.1-1mm care se introduc ca atare în spectrofotomerul IR. Evident solvenții trebuie să fie anhidrii, puri și transparenți în IR pentru domeniul de interes. Solvenții preferați pentru diluții sunt CCl_4, $CHCl_3$ și CS_2.

Solidele se analizează fie în soluții fie ca emulsii în ulei de parafină (denumit în literatura de specialitate după produsul comercial NUJOL™). Acesta absoarbe doar în trei benzi cunoscute. Se mai pot utiliza emulsii în KBr cristalin la o diluție de 1% (1mg substanță la 99mg KBr). Pastila transparentă obținută după măcinare și presare se fixează într-o ramă potrivită și se introduce în aparat în fața fascicolului IR.

Analize chimice de amestecuri multicomponente

Dacă se pune problema analizei prin specrofotometrie IR a unui amestec de mai mulți componenți, cunoscându-se dinainte spectrul de absorbție individual al acestora, se poate realiza această determinare utilizând legea Lambert- Beer. În conformitate cu legea amintită, dacă componentele nu interacționează unele cu altele, se poate admite aditivitatea absorbanțelor adică: absorbanța unei substanțe aflate în amestec cu alta este aceeaşi cu cea care ar avea-o substanța dacă ar fi singură în celulă. Datorită numărului mare de linii metoda este aplicabilă și în domeniul IR, în special pentru amestecuri de gaze.

Pentru exemplificare să considerăm un amestec de trei compuși, fiecare având o concentrație finită simbolizată C_A, C_B, C_C. Pentru determinarea prin analiză a substanțelor A, B şi C se alege o câte o bandă caracteristică, diferită, pentru fiecare, cu maximele λ_1, λ_2 şi λ_3. Chiar dacă maximele sunt diferite la fiecare din cele trei lungimi de undă, se constată că toate cele trei substanțe absorb lumina dar într-o măsură foarte diferită. Să notăm cu A_1, A_2 şi A_3 absorbanțele măsurate pentru cele trei lungimi de undă λ_1, λ_2 şi λ_3. Evident, în virtutea celor amintite anterior, fiecare din cele trei absorbanțe măsurate reprezintă contribuția tuturor celor trei substanțe. Cunoscându-se coeficienții molari de extincție pentru fiecare din cele trei substanțe, la fiecare din cele trei lungimi de undă (9 valori: ε_A^1, ε_A^2, ε_A^3, …, ε_C^2, ε_C^3), se poate scrie, în cazul unei celule cu lungimea l constantă, pe baza existenței aditivității absorbanțelor următoarele ecuații:

÷ Pentru λ_1: $\varepsilon_A^1 C_A + \varepsilon_B^1 C_B + \varepsilon_C^1 C_C = A_1/l$

÷ Pentru λ_2: $\varepsilon_A^2 C_A + \varepsilon_B^2 C_B + \varepsilon_C^2 C_C = A_2/l$

÷ Pentru λ_3: $\varepsilon_A^3 C_A + \varepsilon_B^3 C_B + \varepsilon_C^3 C_C = A_3/l$

Se observă că a apărut un sistem de trei ecuații liniare cu trei necunoscute anume C_A, C_B, C_C (adică chiar concentrațiile). Soluția se află analitic:

$$\begin{pmatrix} \varepsilon_A^1 & \varepsilon_B^1 & \varepsilon_C^1 \\ \varepsilon_A^2 & \varepsilon_B^2 & \varepsilon_C^2 \\ \varepsilon_A^3 & \varepsilon_B^3 & \varepsilon_C^3 \end{pmatrix}^{-1} \cdot \begin{pmatrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} C_A \\ C_B \\ C_C \end{pmatrix} \qquad (9)$$

Practic pot interveni mai mult de trei lungimi de undă. Sistemul deşi are în acest caz mai multe ecuații decât necunoscute se poate rezolva şi conduce la rezultate mai precise. În cazul anterior notând matricea coeficienților [ε]**,** matricea absorbanțelor [A] şi matricea concentrațiilor (necunoscutelor) [C]**,** se poate scrie soluția sistemului precedent mai simplu astfel:

$$[C] = [\varepsilon]^{-1} \times [A] \qquad (10)$$

Întrebări de verificare

1. Care este domeniul de numere de undă ai spectrometriei IR?
2. La ce serveşte domeniul IR apropiat?
3. Care dintre cele trei domenii IR: apropiat, mediu şi îndepărtat este cel mai bogat în informații structurale?
4. Ce mărime, notată cu T, se măsoară în spectrometria IR?
5. Ce fel de mişcări de vibrație există pentru o legătură covalentă?
6. De ce moleculele H_2, O_2, N_2 nu se pot analiza prin spectrometrie de absorbție IR?
7. Ce surse se utilizează în spectrometrele IR? Ce fel de celule se folosesc?
8. Ce tranziții determină structura fină a spectrelor IR?
9. Care sunt translațiile determinante pentru spectrul IR - fundamental?
10. Cum se pot analiza amestecurile multicomponente prin spectrometrie IR?
11. Ce modele servesc pentru descrierea teoretică a vibrațiilor în spectrul IR?
12. Care sunt regulile de selecție pentru numerele cuantice de vibrație şi rotație?
13. Ce sunt fotometrele nedispersive şi la ce servesc în analizele chimice?
14. Cum se prepară probele solide şi lichide în vederea analizei prin spectrometrie IR?
15. Ce sunt detectorii pneumatici şi pe ce principiu funcționează?
16. Prin ce se deosebesc monocromatoarele în IR față de UV-VIS?

Un truc vechi câteodată reuşeşte pentru că nimeni nu se gândeşte la el
Eugene O'Neil (1888-1953), dramaturg american

Analiza prin absorbție atomică (AA)

Metoda *analizei prin absorbție atomică* (AA), introdusă în analiza chimică din anul 1952 de către australianul A. Walsh [85], se bazează pe fenomenul cunoscut cu aproape o sută de ani înainte (1859) - descoperit de germanul G. R. Kirchhoff - şi anume *inversia liniilor spectrale*. Principiul, stabilit pe baze experimentale, se poate enunța sub formă de lege fizică - *legea lui Kirchhoff* - astfel: *fiecare element chimic absoarbe acele radiații pe care le poate emite în aceleaşi condiții, bine determinate, de temperatură şi presiune*. Primul instrument folosit a fost o improvizație pentru a se obține absorbția atomică în cadrul unui fotometru cu flacără (un spectrometru de emisie în care excitarea atomilor se realizează într-o flacără). Acesta, ca şi celelalte instrumente care au urmat, măsoară concentrația unui element dintr-o probă, prin determinarea absorbției realizate de către atomii probei, aduşi într-o flacără sau, mai general, în fază gazoasă (la o temperatură suficient de ridicată) asupra unei radiații monocromatice furnizate de o sursă externă. Evident că radiația respectivă este astfel aleasă încât să fie caracteristică unui anumit atom.

Spectrometrul de absorbție atomică măsoară radiația absorbită de atomii care rămân în stare fundamentală (neexcitați) în stare gazoasă. Numărul acestora fiind de obicei mult mai mare decât a celor excitați, spectrometria de absorbție atomică (AAS [86]) este o metodă caracterizată de o sensibilitate mult mai bună, cel puțin până la temperaturi de 5000K. Remarcăm faptul că aparatura pentru absorbție atomică poate fi utilizată, la nevoie, şi pentru lucrul în emisie.

Principiul metodei

Ionii din soluția de analizat, prin pulverizare (sau nebulizare) pătrund o dată cu gazul purtător într-o zonă cu temperatura ridicată (de ex. o flacără) şi devin atomi. Aceştia trebuie aduşi într-o stare energetică potrivită în vederea favorizării absorbției şi reducerii la minim a emisiei. Acest lucru se realizează în flăcări cu temperaturi din domeniul 2000-3000K (obținute de exemplu folosind arzătoare cu aer-acetilenă).

Modul în care se produc atomii metalici în stare gazoasă este descris mai amănunțit în continuare (fig. 1). La aspirarea soluției într-o flacără se petrec, într-o succesiune rapidă, următoarele etape:

[85] http://www.science.org.au/academy/memoirs/walsh2.htm
[86] AAS = prescurtarea denumirii în l. engl., Atomic Absorption Spectrometry.

÷ evaporarea solventului până la un reziduu solid;

÷ vaporizarea solidului şi disocierea în atomii componenţi, care dau, într-o primă etapă, atomi în stare fundamentală;

÷ final, o parte din atomii de la punctul b) pot fi aduşi în stare excitată, preluând căldura din flacără şi devenind atomi excitaţi, care constituie ei înşişi surse de radiaţii. Spectrul de emisie rezultant constă din linii caracteristice mai ales ale atomilor dar şi ale ionilor excitaţi care pot apărea (procesul 4 din fig. 1). O parte dintre atomi se pot transforma şi în alte specii MO, MOH (procesul 5 pe fig. 1) când nu mai iau parte la procesul de absorbţie atomică.

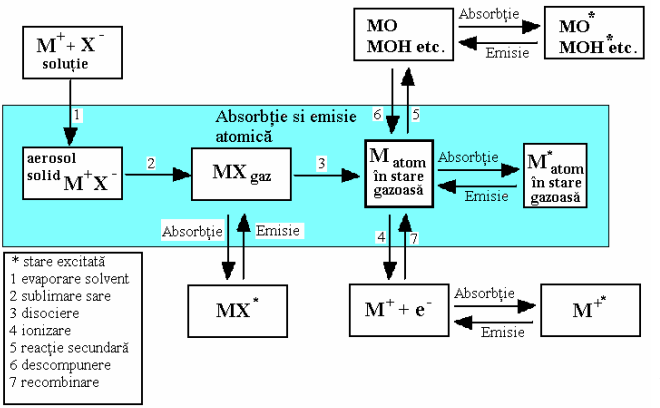


Fig. 1. Transformări posibile ale analitului în dispozitivul de atomizare (flacără) - zona cenuşie

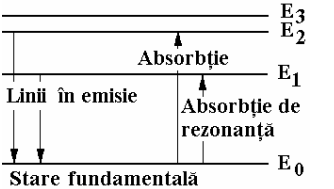


Fig. 2. Absorbţia de rezonanţă este una din cele mai utilizate linii în analiza chimică prin absorbţie atomică

De aceea, pentru a se realiza o selectivitate bună, sursa de radiaţii ce emite fascicolul care urmează să parcurgă celula, trebuie să fie o sursă monocromatică având o frecvenţă egală cu cea a *liniei de rezonanţă* a atomilor din proba de analizat (vezi fig. 2). O astfel de tranziţie are loc la trecerea unui electron de pe stratul de valenţă, dintr-un atom în stare fundamentală, având o energie E_0 (energie prin convenţie luată egală cu 0) până la primul nivel accesibil, de deasupra sa, E_1. Această tranziţie are loc ca urmare a absorbţiei de radiaţie electromagnetică monocromatică, adică corespunzătoare unei cuante $h\nu = E_1-E_0$. Absorbţia, în urma căreia apare tranziţia de pe starea fundamentală pe primul nivel de energie, se numeste *absorbţie de rezonanţă* şi îi corespunde o *linie de rezonanţă*, aceeaşi atât în absorbţie cât şi în emisie.

Desigur, electronii pot trece prin absorbţie şi pe alte nivele de energie însă cu o probabilitate mai mică, adică dau linii mai puţin intense. În emisie, tranziţiile au loc în sens invers. Relaţia dintre numărul de atomi excitaţi, N_1, şi cei aflaţi în stare fundamentală, N_0, este cunoscută din chimia fizică, sub denumirea: *ecuaţia lui Boltzmann* şi se poate scrie:

$$N_1/N_0 = (g_1/g_0)\exp(-\Delta E/kT) \quad (1)$$

unde N_1 este numărul de atomi în stare excitată pe nivelul 1, N_0 - numărul de atomi aflați în stare fundamentală, g_1/g_0 - reprezintă raportul ponderilor statistice pentru starea excitată respectiv fundamentală, mărimi ce depind de numerele cuantice ale nivelelor existente în fiecare atom în parte, $\Delta E = h\nu$ - variația de energie a tranziției, k - constanta lui Boltzmann, T - temperatura absolută în K. În mod obişnuit raportul N_1/N_0 este subunitar. Se poate observa că N_1/N_0 depinde atât de ΔE cât şi de T. O creştere a temperaturii şi o scădere a valorii intervalului energetic, ΔE, va conduce implicit la o mărire a raportului N_1/N_0. Calculele demonstrează că, *în cele mai favorabile condiții, doar o mică parte din atomi se găsesc în stare excitată*, lucru vizibil şi din datele prezentate în tabelul 1, pentru câteva linii de rezonanță tipice.

Tabelul 1. Raportul dintre numărul de atomi din stările excitată, N_1, respectiv fundamentală, N_0, la două temperaturi, 2000, respectiv 4000 K

Element	ΔE (eV)	Lungime de undă (nm)	N_1/N_0	
			2000K	4000K
Na	2.1	589.0	$9.86.10^{-6}$	$4.44.10^{-3}$
K	2.93	422.7	$1.91.10^{-6}$	$6.03.10^{-3}$
Zn	5.79	213.9	$7.31.10^{-6}$	$1.48.10^{-7}$

Walsh a fost cel care a propus primul, pentru această metodă, în calitate de surse de lumină, nişte lămpi de construcție specială denumite *lămpi cu catod cavitar* [*87*] (fig. 3) care emit un spectru atomic, format din linii, caracteristice materialului (metalului) din care este confecționat catodul. Cu ajutorul monocromatorului se selectează doar linia dorită, de obicei linia de rezonanță a elementului respectiv.

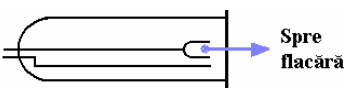


Fig. 3. Lampa cu catod cavitar

În afara sursei, deosebită de toate sursele utilizate în celelalte metode optice, schema bloc a acestei metode (fig. 4) este cu totul analogă spectrofotometriei de absorbție în general. Deosebirea este aceea că, în cazul absorbției atomice, în loc de soluții lichide, probele se afla în stare gazoasă într-o flacără şi nu sunt constituite din molecule ci din atomi în stare fundamentală.

Lampă cu catod cavitar (sursă) → Flacără sau cuptor (celulă) → Monocromator → Detector

Fig. 4. Schema bloc a spectrometrului de absorbție atomică

[87] *hallow cathode lamp* în limba engleză.

Legea absorbției radiațiilor

Analogia cu metoda spectrofotometriei de absorbție merge mai departe și anume legea absorbției radiațiilor în cazul unui fascicol incident, monocromatic este aceeași.

Dacă un fascicul incident, de intensitate I_0, în urma trecerii prin stratul absorbant, de grosime l, devine un fascicul de intensitate I, relația dintre I și I_0 este dată tot de *legea Lambert-Beer* scrisă diferit:

$$I = I_0 e^{-KlN} \qquad (2)$$

unde: K este coeficientul de absorbție atomică, l - lungimea flacării, N - numărul de atomi, aflați în stare fundamentală, din unitatea de volum. Analog cu cele învățate la spectrofotometria de absorbție, dacă notăm cu A absorbanța:

$$A = \ln (I_0/I) \qquad (3)$$

ecuația de mai sus devine prin logaritmarea ambilor membri:

$$A = KlN \qquad (4)$$

Deci A, pentru un atom dat, pentru parametrii fizici ai sistemului optic constanți și o flacără fixă, este proporțional cu N. Cum numărul de atomi din unitatea de volum N depinde de mai mulți factori constanți (debit, vâscozitate etc.) dar mai ales de concentrația C a soluției pulverizate în flacără, introducând concentrația în locul numărului de atomi, N, ecuația devine:

$$A = kC \qquad (5)$$

unde k este un coeficient constant, propriu fiecărui element la lungimea de undă aleasă și în condițiile unui instrument dat și ale unei flăcări stabile. Relația, liniară în coordonatele A-C, este utilă pentru analiza cantitativă propriu-zisă și exploatată cu totul analog ca în spectrofotometria de absorbție UV-VIS.

Aparatura

Schema de principiu, ilustrată anterior pentru spectrometrul de absorbție atomică (vezi fig. 4), poate fi completată cu mai multe amănunte (fig. 5). Între electrozii *lămpii cu catod cavitar* se aplică 400V şi un curent de 10-40mA, foarte bine stabilizat, pentru a emite un flux luminos de intensitate constantă. Soluția conținând proba etalon, sau cea de analizat, este transformată într-un aerosol fin, în interiorul unei incinte numite *sistem de pulverizare*, sau pulverizator (*nebulizor*). Aerosolul, amestecat intim cu amestecul de gaze, oxidant plus carburant, este condus apoi în flacără (fig. 5).

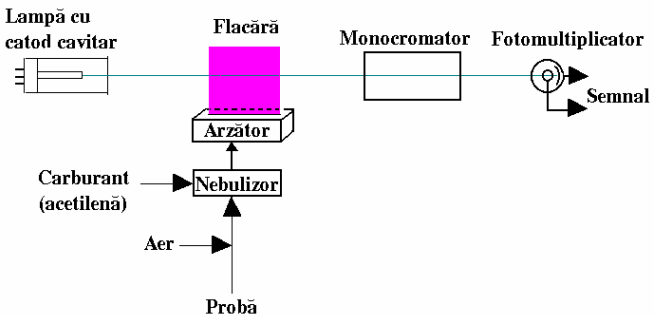


Fig. 5. Schemă ilustrând principul funcționării analizorului prin AA

Se pot utiliza variate amestecuri carburant - comburant prezentate în tabelul alăturat (vezi tabelul 2). Flacăra sau cuptorul tubular din grafit - o variantă mai puțin frecvent folosită a metodei - în care se introduce proba, se extinde pe direcția sursei de lumină, respectiv a fantei *monocromatorului*. Acesta selectează un interval foarte îngust din spectrul luminos.

Tabelul 2. Tipuri de flăcări în funcție de carburantul şi comburantul folosit

Flacără	Elemente de analizat
Aer + propan sau *Aer + oxid de carbon*	Li, Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Mo, Ag, Au, Pb, Bi
Aer + acetilenă	Aceleaşi ca mai sus dar Cr, Co, Au, Fe, Mg se determină mai bine în flacără aer - acetilenă
Aer + hidrogen sau Oxigen + hidrogen	Ca, Sn
Oxigen + acetilenă (flacără bogată în acetilenă)	Be, B, Al, Ti, V, Nb, Y, Sn, La şi lantanide
Protoxid de azot - Acetilenă ($N_2O + C_2H_2$)	Al, Si, B, Zr

Atomii unui anumit element absorb doar lumina cu lungimea de undă specifică elementului respectiv. Tocmai aceste lungimi de undă caracteristice sunt emise de sursă şi trecute prin flacără iar diminuarea, exprimată în unitați de absorbanță, este proporțională cu numărul de atomi ai elementului de analizat, prezenți în flacăra. Atomii celorlalte elemente

însoțitoare nu absorb lumina la aceeaşi lungime de undă ci fiecare la alte valori ale acesteia. Acest lucru se asigură prin selectarea lungimii de undă şi cunoaşterea elementelor însoțitoare. *Detectorul*, de regulă un foto-multiplicator, măsoară intensitatea luminii monocromatice - obținută după parcurgerea unui monocromator.

Metoda descrisă este o *metodă relativă*, adică pentru etalonare se măsoară mai întâi cel puțin o probă cunoscută (numită *probă etalon*). Operația este denumită în mod curent *calibrare* sau *etalonare*. Se lucrează de cele mai multe ori prin *metoda curbei de etalonare* sau prin *metoda adaosului standard*. Analiza chimică prin absorbție atomică este extrem de specifică, lărgimea benzii de absorbție, fiind foarte îngustă - de ordinul a 10^{-3}nm - face aproape imposibile orice confuzii privind analitul. De aceea cu această metodă se pot analiza 66 elemente metalice sau semimetalice, fiind puțin recomandată pentru nemetale. Metoda analizei prin AA este principala metodă de analiză a elementelor metalice minore din materiale sau din mediu, inclusiv poluarea organismelor cu acestea. *Liniile specifice cad în domeniul 190-850nm* permițând analize de ordinul microgramelor (μg) iar în anumite cazuri chiar a nanogramelor (10^{-9}g) dintr-un mililitru de soluție. Sensibilitatea practică diferă de la element la element şi este acea concentrație ce dă o crestere de 0.00434 unități de absorbanță (aproximativ 1% din intensitatea luminii incidente). Aceasta se exprimă în μg/ml sau, ceea ce este acelaşi lucru, în *ppm* (părți per milion).

Probleme speciale

În practică apar totuși interferențe cu alte elemente din probă, de exemplu are loc formarea unor *combinații greu disociabile* ($Mg_2P_2O_7$, ZrO_2 sau Ca_3PO_4 etc.) sau efecte legate de temperatura flăcării cu care se lucrează - prea mare sau prea mică - ceea ce afectează numărul atomilor în stare fundamentală. Acestea, indiferent de natura lor fizică, au căpătat denumirea de *efect de matrice*. De aceea trebuie luate contramăsuri. Toate aceste probleme se studiază individual, folosind publicațiile de specialitate. Pentru a se asigura o limită de detecție cât mai joasă, este necesară neutralizarea fluctuațiilor fondului. Pentru acest scop s-au pus la punct instrumente cu dublu fascicul, ale căror detectoare primesc alternativ semnale de la raza incidentă care, odată traversează proba (flacăra sau cuptorul) și, alternativ, trece nemodificată sub formă de radiație de referință. În cazul atomizoarelor cu flacără efectul de matrice este mai redus. În cazul utilizării cuptoarelor tubulare efectul devine foarte important datorită concentrației mai ridicate a acesteia. Cele mai importante mijloace de corecție a fondului sunt cele bazate pe lămpi cu deuteriu și cele care utilizează efectul Zeeman.

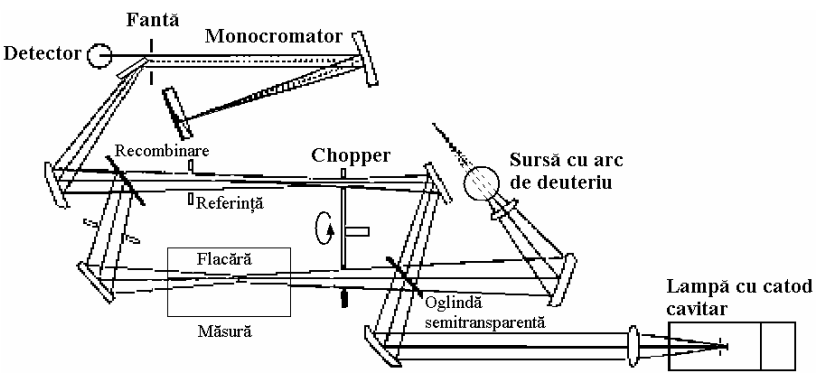


Fig. 6. Instrument la care corecția fondului se face cu ajutorul unei lămpi cu arc de deuteriu

În cazul dispozitivelor cu *lămpi cu deuteriu* (fig. 6) flacăra este traversată de lumina care iese din lampa cu catod cavitar *amestecată* cu raza emisă de o lampă cu arc de deuteriu (250-350nm). Cu ajutorul unei oglinzi semitransparente și a unui chopper, amestecul celor două raze este trimis alternativ prin flacără și pe un drum care ocolește flacăra, constituind raza de referință. Detectorul primește, cu frevența dictată de chopper, atât semnalul de referință cât și cel de măsură, iar raportul celor două raze se înregistrează după corecția de fond, sub formă de absorbanță.

Un alt mare avantaj al metodei analizei prin AA îl constituie posibilitatea de a utiliza solvenți organici pentru concentrarea probei. Aceștia, prin posibilitatea lor de a extrage doar anumiți ioni din soluție apoasă, într-un volum mic, măresc și sensibilitatea și specificitatea metodei. Cei mai adecvați solvenți par a fi esterii și cetonele alifatice.

Metode evoluate

Varianta denumită *metoda cuptorului tubular* (sau spectrometria de absorbție atomică fără flacără) utilizează un cuptoraş tubular (fig. 7), din grafit, încălzit electric, menținut în azot sau altă atmosferă inertă la 2000-3000K dar pornindu-se de la temperatura camerei. Această variantă prezintă avantajul de a se putea lucra şi pe probe solide, fără o dizolvare chimică a probei. Proba, soluție sau solidă, se introduce în cuptor sau intră prin încălzire în drumul razelor din cuptor, utilizându-se seringi micrometrice (ce măsoară probe de ordinul µl). Are loc consecutiv uscarea, calcinarea, evaporarea şi măsurarea absorbției, obținându-se limite de detecție de 10^{-10}-10^{-13} g/probă.

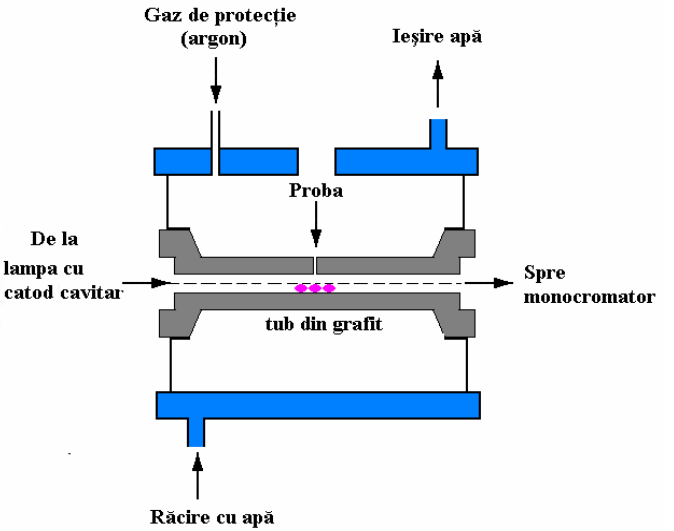


Fig. 7. Cuptorul tubular din grafit, încălzit electric, permite volatilizarea probelor

În ultimul timp, în afară de achiziția datelor cu calculatorul, au apărut lămpile multielement, ce permit analize pe grupuri de elemente, nemaifiind necesară schimbarea lămpii cu catod cavitar, ci doar a lungimii de undă din monocromator fiind mai uşor de automatizat. De asemenea au apărut instrumentele cu două drumuri optice, majoritatea instrumentelor având posibilitatea utilizării ambelor variante - cu flacără sau cu cuptor tubular (fără flacără). În sfârşit, utilizarea efectului Zeeman - despicarea liniilor spectrale atomice prin plasarea sursei în câmp magnetic - a mărit şi mai mult selectivitatea metodei.

Metoda vaporilor reci. Elementele volatile, de mare interes în protecția mediului - mercur, arsen, staniu, stibiu, bismut, seleniu - au două proprietăți importante pentru analiza lor chimică. Se reduc cu dificultate la elemente în flacără în schimb dau uşor hidruri volatile. De aceea, înainte de introducerea în flacără a probelor conținând aceste elemente, proba se supune unui proces chimic necesar transformării elementelor chimice amintite în hidrurile

volatile respective. Acest lucru se realizează în nişte accesorii denumite *generatoare de hidruri*. În acestea, prin reacția cu borohidrură de sodiu sau cu clorură stanoasă, în mediu acid, se petrece transformarea elementelor amintite în hidruri care, conduse în flacără, la încălzire, se descompun termic. De exemplu, în cazul arsenului au loc reacțiile:

$$As^{3+} \xrightarrow{NaBH_4} AsH_3 \xrightarrow{800^oC} As + 3/2H_2$$

Hidrura volatilă este antrenată de gazul purtător într-un cuptoraş din cuarț, plasat în flacără unde de fapt are loc şi reacția de descompunere în atomi. În acest fel s-au obținut sensibilități de 100 de ori mai bune, în cazul acestor elemente. În cazul particular al mercurului, care nu dă o hidrură stabilă, se utilizează nişte celule speciale din care Hg nu mai are nevoie să fie transferat în flacără. Metoda, denumită metoda vaporilor reci, se aplică în dispozitive specifice în care reducerea are loc cu $SnCl_2$.

Metoda fluorescenței atomice

Analog cu celelalte metode bazate pe fluorescență, lumina incidentă servește la excitarea probei în vederea obținerii radiației de fluorescență, reemisă în toate direcțiile. Aceasta este separată de un alt monocromator şi măsurată. Fiind reemisă în toate direcțiile, există întotdeauna o pierdere de semnal prin măsurarea doar după o direcție. Fluorescența, ca intensitate măsurată în fotodetector, I_F, va depinde în, afară de numărul de atomi în stare fundamentală din flacără, şi de intensitatea sursei luminoase incidente. Aşadar,

$$I_F = kI_0N, \qquad (6)$$

unde k este o constantă de proporționalitate, I_0 - intensitatea sursei şi N numărul de atomi din unitatea de volum (de flacără). Se preferă din acest motiv lămpile de descărcare cu vapori în cazul elementelor uşor volatilizabile (de exemplu Zn, Cd, Tl). Metoda dă rezultate bune mai ales la elementele cu linii de rezonanță în UV, după cum se poate constata din tabelul 3 - radiația UV fiind mai bogată în energie decât cea din vizibil. Din examinarea tabelului 3 se poate constata că pentru calciu este mai sensibilă emisia, pentru magneziu sau mangan, absorbția atomică, iar pentru cadmiu sau zinc, fluorescența atomică.

Tabelul 3. Limite de detecție prezentate comparativ pentru AA, analiza prin fluorescență atomică şi emisie atomică. Se remarcă coborârea marcantă a limitei de detecție pentru unele metale (Cd, Zn, Hg) în cazul fluorescenței atomice

Element	λ (nm)	Limite de detecție ($\mu g \cdot mL^{-1}$)		
		Absorbție	Fluorescență	Emisie
Ag	328.1	0.0005	0.0001	0.002
Al	396.2	0.04	0.1	0.005
Ca	422.7	0.0005	0.02	0.0001
Cd	228.8	0.0006	0.000001	2
Hg	253.7	0.2	0.0002	40
Mg	285.2	0.0003	0.001	0.005
Mn	279.5	0.002	0.006	0.005
Zn	213.8	0.002	0.00002	50

Întrebări de verificare

1. Ce sursă de radiație folosește analiza prin absorbție atomică?
2. Care este principiul inversiei liniilor spectrale descoperit de Kirchhoff?
3. În ce stare se găsesc atomii probei în AA?
4. Ce linie este selectată, de regulă, cu ajutorul monocromatorului?
5. Ce lege este utilizată pentru analiza cantitativă?
6. Cum se liniarizează legea lui Lambert-Beer?
7. Ce fel de metode se aplică pentru determinări cantitative prin AA?
8. Proba o dată adusă în soluție se introduce în flacără prin intermediul unui dispozitiv ...
9. Pentru ce elemente se aplică, cu prioritate, metoda AA?
10. În ce domeniu de lungimi de undă cad liniile folosite în analiza chimică prin AA?
11. Ce gaze se utilizează drept carburant în flacără?
12. Ce avantaje prezintă cuptorul tubular în analiza prin AA?
13. Ce progrese recente au avut loc în analiza prin AA, în ultimul timp?
14. Ce posibilități noi prezintă utilizarea solvenților organici pentru introducerea probei în AA?
15. Pentru ce elemente este avantajoasă transformarea atomilor acestora în hidruri în vederea analizei ulterioare prin AA?
16. Ce avantaje prezintă metoda fluorescenței atomice?

Opera noastră nu se adresează decât acelora care emit pe aceeaşi lungime de undă cu noi
Jean Cocteau (1889-1963), Journal d'un inconu

Spectrometria de emisie

Introducere

Atomii sau ionii unui element, aduşi în diferite stări excitate, revin la nivele staționare mai coborâte ca energie sau chiar în stare fundamentală, emițând radiații electromagnetice, cu frecvențe din domeniul UV, VIS şi IR. Ansamblul acestor frecvențe constituie *spectrul de emisie* al speciei respective.

Având nivelele bine definite şi distincte de la un atom la altul (cu foarte rare excepții), *spectrul de emisie va fi diferit - aşadar va caracteriza calitativ fiecare atom* - permițând identificarea şi dozarea elementelor chimice. De aceea, în principiu, toate elementele chimice pot fi analizate cu ajutorul spectrometriei optice de emisie atomică (prescurtată OES [88] în literatura de specialitate), inclusiv elementele uşoare. Nu acelaşi lucru se poate afirma despre spectrometria de emisie în flacără (flamfotometria), folosind flăcări convenționale, care permite doar determinarea unui număr extrem de redus de elemente chimice. Totuşi în practică se utilizează metoda OES pentru determinarea a circa 70 de elemente chimice, majoritatea metalice.

Spectrul de emisie al unui atom se obține prin excitarea termică a acestuia, după aducerea în prealabil în stare de vapori, deci prin aducerea probei la o temperatură suficient de ridicată încât moleculele acesteia să disocieze în atomi, care emit apoi spectre caracteristice. Spectrele atomice ale elementelor sunt determinate de electronii de valență, fiind una dintre proprietățile periodice. Fiind aduşi în stare gazoasă, înainte de excitare, este indiferent ce tip de legături chimice au existat înainte, în materialul de analizat. De aceea, analog metodei prin absorbție atomică, informațiile structurale nu se pot obține cu ajutorul acestui gen de analize chimice.

Cea mai intensă linie din spectrul de emisie este linia de rezonanță, ce corespunde revenirii atomilor de la prima stare de excitare (sau nivelul cel mai scăzut de excitare), la starea fundamentală.

Identificarea liniilor prin stabilirea lungimii lor de undă, constituie baza analizei calitative, iar determinarea intensității liniei, I, stă la baza analizei cantitative. Ecuația ce leagă intensitatea, I, de concentrația elementului de analizat din probă, notată C, este: I = f(C), stabilită pe cale experimentală.

[88] OES = **O**ptical **E**mission **S**pectroscopy

Pentru a emite toate radiațiile posibile din spectru, atomul trebuie sa absoarbă o energie cel puțin egală cu potențialul de ionizare al său. Majoritatea elementelor au acest potențial sub 10eV. Valorile cele mai mici, din acest punct de vedere, le au elementele alcaline. Halogenii însă au potențiale de ionizare peste 10eV. De aceea, *pentru aceeaşi energie de excitare, sensibilitatea analizei spectrale va fi mai mare pentru elementele cu energia de ionizare joasă* şi evident mai mică pentru cele cu energia de ionizare ridicată (adică pentru cele situate în partea dreaptă şi sus a sistemului periodic - halogenii şi celelalte nemetalele tipice). Elementele alcaline şi alcalino-pământoase se pot analiza şi cu o aparatură spectrală mai simplă şi anume prin *spectrofotometrie de flacără* respectiv cu cea pentru absorbție atomică unde flacăra este utilizată ca sursă optică.

Privind retrospectiv, spectroscopia optică de emisie atomică (OES), a permis descoperirea unor elemente noi, la vremea respectivă: Rb şi Cs (ambele în 1860), Tl (1862) precum şi a elementelor Ga şi He. Ultimul dintre acestea, decelat mai întâi în lumina venită de la Soare (1868), a fost identificat cu mult înainte de a fi fost izolat pe Pământ (1895). Acestea sunt doar câteva dintre numeroasele contribuții ale spectrometriei la cunoaşterea umană.

Avantajele OES cantitative constau în sensibilitatea considerabilă, rapiditatea excepțională, reproductibilitatea bună, necesarul de cantități mici de proba iar dintre dezavantaje amintim: eroarea de 2.5%, în cel mai fericit caz, exactitate relativ constantă pe tot domeniul de concentrații şi posibilitatea de a analiza corect doar elementele minore. De asemenea instrumentele pentru acest gen de analize sunt scumpe - constituind investiții serioase, pe termen lung, ale laboratoarelor de analize chimice instrumentale.

Instrumentația

Aparatura, cunoscută sub denumirea de spectometru de emisie atomică, se compune din următoarele părți:

÷ sursa de excitare: flacără, arc, scânteie, descărcare aureolară, plasmă sau laser,

÷ sistemul de dispersie: prismă, rețea sau ambele,

÷ sistemul de receptie, măsurare şi înregistrare (fotomultiplicatori sau fotodetectori, amplificatori, placă de achiziție, calculator),

÷ sistemul optic de fante, fibre din sticlă şi lentile care asigură traiectoria razelor de lumină prin instrument.

Cel mai simplu spectrometru, cel cu prismă, este prezentat schematic în fig. 1.

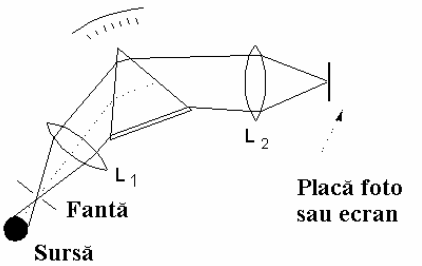


Fig. 1. Cel mai simplu spectrometru - cel cu prismă (L_1, L_2 = lentile)

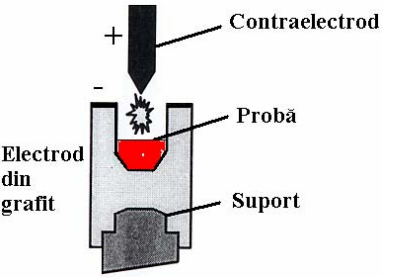


Fig. 2. Suportul pentru probă în cazul spectrometriei în arc sau scânteie

Sursa spectrală cea mai veche în OES, utilizată în variante perfecționate şi astăzi, o constituie *arcul electric* - creat între doi electrozi de grafit (spectral pur) sau un electrod de grafit şi unul de cupru (sau un alt metal pur, absent din probă) - a cărui intensitate a curentului este de câteva zeci de amperi. Temperatura realizată se situează între 3000-6000K. Electrodul inferior este fasonat în formă de crater, astfel încât să suporte proba (fig. 2), aflată fie sub formă de fragmente metalice, fie sub formă de pulbere, în amestec cu grafit şi în ambele cazuri, presate în cavitatea micro-creuzetului. La apariția arcului electric, elementul de analizat din probă se volatilizează, transformându-se în atomi sau ioni. Arcul în curent continuu este recomandat în analiza spectrelor atomice, iar cel în scânteie - provocat de un curent alternativ (având o energie de 20-50keV), care duce la temperaturi mai ridicate - pentru analiza spectrelor ionilor.

Spectrometrele moderne sunt prevăzute cu monocromatoare cu o rețea curbată care localizează liniile spectrale pe același cerc cu cel căruia îi aparține rețeaua: așa-numitul *cerc Rowland*, reprezentat în fig. 3. Lumina pătrunde spre rețeaua curbată intrând printr-o fantă situată pe acest cerc şi ies printr-o altă fantă situată tot pe cerc. Receptorii, astăzi formați din minusculi fotoreceptori sau fotomultiplicatori, sunt plasați chiar în dreptul fantei de ieşire.

Spectometrele cu vid, sunt instrumente la care drumul optic se realizează în vacuum şi se utilizează pentru determinarea elementelor a căror radiație este absorbită de aer la presiunea normală: C, P, As, S.

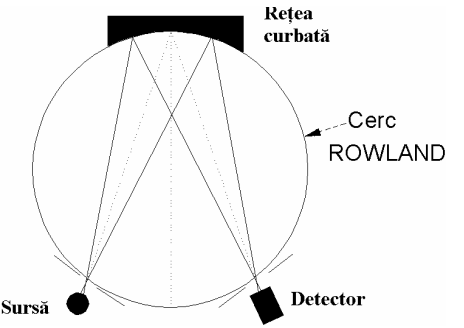


Fig. 3. Cercul Rowland - se observă locul fantelor de intrare şi de ieşire

Spectrometrul multicanal simultan are în drumul optic al radiației fiecărui element de analizat câte o fantă şi un fotodetector. În această variantă radiația venită de la sursă intră printr-o singură fantă, fiind apoi dispersată prin rețeaua concavă bazată pe reflexie. Radiația compusă, incidentă, ajunge la o serie de fante de ieşire care izolează, fiecare, linia selecționată de către utilizator pentru un anumit element. Fantele de intrare şi cele de ieşire se găsesc ambele pe acelaşi cerc Rowland - având raza de curbură egală cu aceea a oglinzii. Raza, după ce trece prin cele două fante, cade pe fotomultiplicatorul elementului respectiv care dă un semnal de ieşire - un curent - care este integrat pe o capacitate, rezultând astfel o tensiune convertibilă cu uşurință în concentrație. Astfel de spectrometre moderne sunt denumite adesea *cuantometre*. Instrumentele multicanal recente pot analiza simultan până la 60 de elemente chimice. Pentru a se rezolva interferențele apărute se măsoară mai multe lungimi de undă pentru acelaşi element şi se realizează corecții de fond. O analiză de 25 de elemente durează, de la expunerea în analizor, grație mijloacelor de calcul moderne, circa 1-2 minute.

Spectrometrele secvențiale funcționează similar, însă au numai două canale de măsurare a intensități pentru toate radiațiile emise de sursă. Un canal este fix şi măsoară intensitatea radiaților emise de etalon sau de *martorul* din probă, iar altul, mobil, înregistrează succesiv liniile pentru elementele de analizat. Acesta este un analizor mai lent dar totodată mai ieftin, având posibilitatea de a analiza un număr mai mare de elemente decât cel simultan. Acest analizor este avantajos în cercetarea ştiințifică, unde numărul de elemente chimice analizate poate fi foarte diferit.

Spectrometria de emisie cu descărcare aureolară (GD-OES [89]), provoacă, în vidul care mai conține urme de argon, o descărcare în arc -asemănătoare celei din lampa cu catod cavitar (menționată la spectrometria de absorbție atomică). Denumirea provine de la aspectul de aureolă pe care-l capătă proba de analizat în calitate de catod în această sursă (v. fig. 4). În timpul funcționării, proba se corodează cu viteză constantă, datorită arcului electric, pe măsură ce analiza se efectuează, permițând în acest fel un număr mare de analize calitative a unor straturi subțiri succesive din interiorul probei (piesei) paralele cu suprafața. Cunoscându-se viteza de avansare a corodării probei (în µm/sec), această tehnică permite caracterizarea privind compoziția chimică în funcție de distanță (în adâncime) a materialelor compozite - straturi obținute prin tratamente termice, galvanizări sau alte prelucrări ale suprafețele exterioare de pe piesele solicitate în condiții extreme, cele din mașini. În mod surprinzător, proba poate consta şi din pulberi sau chiar din materiale izolatoare.

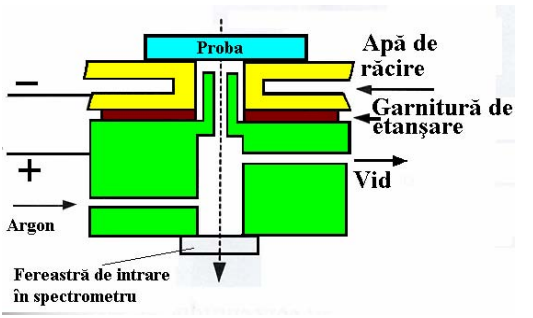


Fig. 4. Sursa pentru obținerea descărcării aureolare în GD-OES

Prin *utilizarea radiației laser*, în calitate de mijloc de excitare, în așa-numita *spectrometrie optică de emisie atomică cu laser*, se elimină interferențele datorate electrozilor din cadrul variantelor în arc sau scânteie. Se pot realiza microspectre locale, pe incluziuni sau zone care, observate la microscop, prezintă aspecte diferite de restul probei. Se realizează *cratere* de diametre 20-200µm, din care se evaporă circa 10^{-8}-$2 \cdot 10^{-6}$g din probă. Zona analizată se fixează în prealabil la un microscop. Sensibilitatea analizei prin această tehnică are de suferit tocmai datorită acestei mase reduse, fiind doar 0.05-1% dintr-un anumit element.

[89] GD-OES = **G**low **D**ischarge - **O**ptical **E**mission **S**pectroscopy (l. engl.)

Analiza chimică calitativă

Analiza calitativă spectrală în funcție de scopul urmărit se împarte în: identificarea componentului major, identificarea impurităților şi analiza completă. Semnificația calitativă a liniei spectrale o dă *lungimea de undă*.

Poziționarea pe placă a liniei spectrale se face de obicei prin intermediul spectrului fierului luat drept etalon. Acesta are circa 5000 de linii, cunoscute exact şi tabelate, în ceea ce privește lungimea de undă. De aceea, practic, se procedează astfel. Cu spectrometrul utilizat se înregistrează spectrul fierului (folosind un arc obținut între un cui de fier şi o bară de grafit). Pe aceeaşi placă sau mijloc de înregistrare se înregistrează consecutiv spectrul probei studiate calitativ. Se proiectează pe acelaşi ecran spectrul fierului şi spectrul elementului (amestecului) necunoscut (conținând şi fier). Prin măsurarea distanțelor reale dintre linii se evaluează lungimile de undă ale liniilor prezente şi se identifică elementul (elementele) prezent. Astfel, conform celor ilustrate în fig. 5 se măsoară d_1 şi d_2 şi apoi se scrie ecuația:

$$\frac{d_1}{d_2} = \frac{\lambda_x - \lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \qquad (1)$$

De aici rezultă prin calcul: $\lambda_x = (\lambda_2 - \lambda_1)d_1/d_2 + \lambda_1$

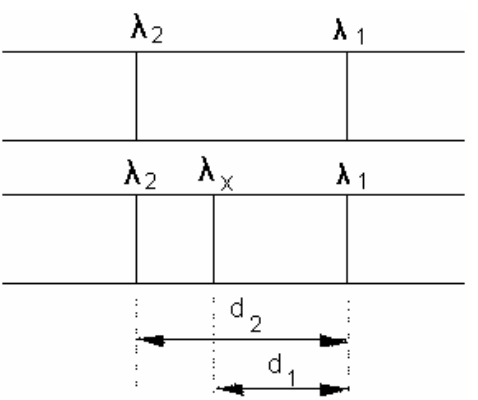


Fig. 5. Compararea spectrului ferului cu spectrul probei de analizat

După calculul valorii λ_x se compară lungimea de undă calculată cu valoarea tabelară a elementului presupus a fi prezent (vezi tabelul 1).

Liniile spectrale ultime sunt acele linii din spectrul unui atom care dispar ultimele, prin diluarea probei. Aceste linii conferă analizei sensibilitatea cea mai mare. Drept regulă importantă, trebuie să reținem că în primul rând, într-o analiză calitativă, *se identifică elementul major* şi bazat pe aceasta se trece la identificarea elementelor minore, respectiv a urmelor, prin comparație cu cel major.

Tabelul 1. Linii spectrale persistente în arc electric

Element	Număr de undă (cm^{-1})	Element	Număr de undă (cm^{-1})
Al	3961.5	Mg	2852.1 2795.5
Bi	3067.7	Li	6707.9
Co	3453.5 2286.2 4254.5	Mn	4030.8 2576.1
Cu	3247.5 2136.9	Mo	3788.3 2816.2
Fe	3719.9 2382.0	Ni	3414.8 2287.1

*Analiza cantitativă***.** Intensitatea, I, a unei linii spectrale este dată de produsul dintre numărul atomilor ce participă la tranziție, n, și energia fotonilor emiși, hν și anume:

$$I = n \cdot h \cdot \nu \qquad (2)$$

Numărul n crește cu temperatura T și este cu atât mai mare cu cât intervalul ΔE al tranziției este mai mic.

În practică, se utilizează o ecuație empirică de forma:

$$I = a \cdot C^b \qquad (3)$$

prin logaritmarea căreia, în ambii membri, se obține ecuația de regresie:

$$\log(I) = \log(a) + b \cdot \log(C) \qquad (4)$$

ceea ce în coordonate logI - logC reprezintă o dreaptă (vezi fig. 6).

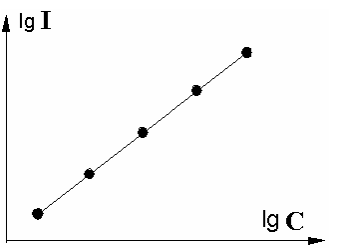


Fig. 6. Aspectul curbei de etalonare în spectrometria de emisie atomică

Pentru diminuarea fluctuațiilor de fond, inerente oricărei surse, se mai utilizează și un *etalon intern*. Acesta este o substanță introdusă în mod voit în probă. Substanța - etalon intern (martorul) trebuie să îndeplinească câteva condiții:

÷ să aibă o concentrație constantă în probă (etaloane),

÷ să se excite în aceleași condiții cu substanța analizată,

÷ să aibă o comportare identică la evaporare,

÷ să aibă o puritate mare,

÷ să prezinte o autoabsorbție mică,

÷ să nu fie conținută în eșantionul de analizat.

Întrucât prin analiza cantitativă *se determină de regulă elementele minore, respectiv elementele în urme, elementul major calculându-se prin diferență,* se preferă uneori drept etalon intern chiar elementul major. Motivul este unul practic: la analizele de serie mare elementul major are o concentrație practic constantă.

Elementul din etalonul intern respectă și el o ecuație log I = f(log C) analogă cu cel de analizat. Presupunând că există un efect de matrice, avem pentru un etalon intern de concentrație fixată, C_e:

$$\log(I_e) = \log(a_e) + b_e\log(C_e) \qquad (5)$$

iar pentru elementul de analizat, x:

$$\log(I_x) = \log(a_x) + b_x\log(C_x) \qquad (6)$$

Scăzând membru cu membru și admițând că $b_e=b_x=b$ se obține o ecuație de tipul:

$$\log(I_x/I_e) = \text{const} + b\cdot\log(C_x/C_e) \qquad (7)$$

unde *const* este ≈ 0.

Curba de etalonare $\log (I_x/I_e) = f[\log (C_x/C_e)]$, tot liniară, va duce la o precizie mai bună a rezultatelor analizelor cantitative decât cea care nu face apel la un element de referință din etalonul intern, datorită diminuării zgomotului dar și a efectului de matrice.

Printre alte măsuri de ameliorare a rezultatelor analizelor amintim că este mai indicat să se analizeze separat elementele puțin volatile, cum ar fi de exemplu Al sau Si, și separat cele volatile, ca de exemplu: Cu, Fe, Mg, Mn, pentru a se putea obține, în condiții experimentale potrivite, de la caz la caz, valori mai ridicate ale raportului semnal-zgomot și, în consecință, precizii mai ridicate.

În afară de etalonul intern, în substanța supusă analizei prin spectrometrie se introduce, tot prin omogenizare și un așanumit *tampon spectral*. Acesta este o substanță pură care are rolul de a stabiliza viteza de evaporare a probei, reducând influența matricei asupra rezultatelor și contribuind la reducerea fondului precum și la mărirea intensității anumitor elemente. Exemple de astfel de substanțe sunt: GeO_2, $Mg(NO_3)_2$, NiO și Na_2WO_4. În analiza spectrală a silicaților, de exemplu, se determină Fe și Mn în prezența $SrCO_3$ iar pentru elementele nevolatile se folosește drept tampon spectral oxidul de ytriu (Y_2O_3) . În cazul prezentat elementele Sr respectiv Y servesc totodată drept etaloane interne.

Plasma cuplată inductiv

O contribuție majoră la succesul OES a adus-o introducerea spectrometrelor cu așa-numitele *torțe* pe bază de *plasmă de argon* unde temperaturile ridicate permit practic excitarea oricărui element (T = 6000K). Tehnica, denumită complet : spectrometrie optică de emisie atomică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES [90]) este mult utilizată în ultimul timp. Este însă obligatorie dezagregarea prealabilă a probei (aducerea acesteia în soluție) și apoi pulverizarea acesteia (ca aerosol) direct în argonul ce va intra în zona caldă (plasmă). Erorile sunt și aici de 3-5%.

Sursa pentru acest tip de plasmă constă dintr-un dispozitiv, prezentat schematic în fig. 7 compus din trei tuburi concentrice, confecționate din cuarț, fiecare deschis în partea dinspre zona caldă (de regulă orientată în sus).

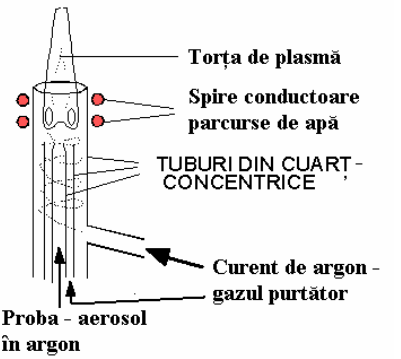


Fig. 7. Plasma cuplată inductiv ia naştere la trecerea unui curent de radiofrecvență (27-50MHz) prin spirele conductoare

Curentul de argon, ce poartă cu sine proba, sub formă de particule fine (un aerosol), trece prin tubul central. Obținerea plasmei este realizată de cele două sau trei înfășurări ale unui tub de inducție prin care circulă un curent de radiofrecvență (27MHz) de mare putere (1-2KW). Un al doilea flux gazos tot de argon ionizat curge, cu un debit cuprins între 10 și 15 $L.min^{-1}$, prin tubul intermediar și servește la menținerea plasmei. Gazul de protecție, care va deveni în partea superioară tot plasmă, curge sub forma unui curent elicoidal, izolând termic tubul de cuarț exterior și dând stabilitate plasmei. Inițial, plasma este pornită de o scânteie, realizată cu un dispozitiv auxiliar, apoi se autoîntreține. Plasma propriu-zisă are o formă inelară (toroidală), în care proba este introdusă în partea centrală, rece, încălzindu-se pe măsură ce se apropie și intră în contact cu zona caldă (vezi fig. 7).

[90] ICP-OES reprezintă, în literatura internațională, prescurtarea denumirii din l. engl.: **I**nductively **C**oupled **P**lama - **O**ptical **E**mission **S**pectrometry

Introducerea probei (etaloanelor) se realizează dintr-o soluție, de regulă apoasă, de către un sistem de pulverizare denumit *nebulizor* similar celui utilizat în absorbția atomică sau spectrometria în flacără, cu deosebirea că debitul este mai mic ($1L \cdot min^{-1}$).

Un exemplu de pulverizator în domeniul plasmei cuplate inductiv este nebulizorul cu debit transversal schițat în fig. 8. Acesta creează un aerosol purtat de gazul purtător (tot argon) spre plasmă - sursa ce emite liniile spectrale.

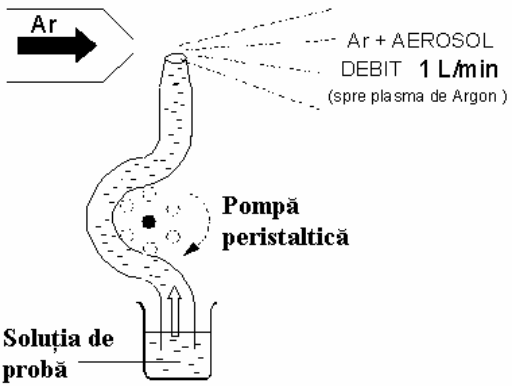


Fig. 8. Pulverizarea probei, prin efect Venturi, în spectrometria cu plasmă

Fotometria de flacără

Această metodă este o variantă simplificată a spectroscopiei de emisie în care sursa de excitare este o flacără. În comparație cu arcul electric, scânteia electrică, laserul sau plasma, sursa în discuție, având temperatura mai coborâtă, are un singur avantaj: *în flacără, existând un număr mic de atomi în stare excitată, spectrul are un număr mai mic de linii.*

Din punct de vedere practic, metoda este importantă prin aceea că permite obținerea semnalelor analitice pentru elemente ca *Na, K, Ca, Li* - elemente dificil de analizat prin numeroase alte tehnici - *utilizând o aparatură relativ simplă și ieftină*. Metoda prezintă interes în analiza apelor unde conținutul Na^+ *și* Ca^{2+} este esențial, concentrația acestora fiind coborâtă.

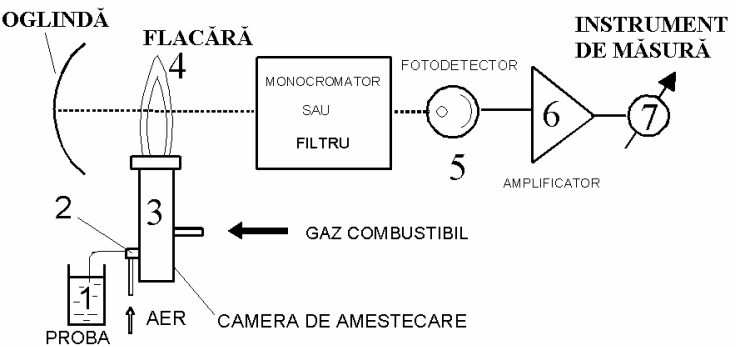


Fig. 9. Schema de principiu a spectrometrului cu flacără

În flacără (vezi fig. 9) căldura provine prin reacții de tipul:

$$C_2H_2 + O_2 \rightarrow 2CO + H_2 + Q' \text{ (reacție primară)}$$

$$2CO + H_2 + O_2 \rightarrow 2CO_2 + H_2O + Q'' \text{ (reacție secundară)}$$

Făcându-se bilanțul căldurii degajate avem: $Q = Q' + Q''$. Deci, suma pierderilor de căldură fiind Q_p, cunoscând masa, m, și căldura specifică medie a amestecului de gaze de ardere, c, se poate evalua temperatura flăcării:

$$T = 273 + \frac{Q - Q_p}{m \cdot c} \qquad (8)$$

Pentru ca un amestec de gaze să poată servi drept sursă spectrală în flamfotometrie, trebuie să îndeplinească condițiile:

÷ să nu aibă spectru propriu (sau cel puțin acesta să fie cât mai redus),

÷ să funcționeze staționar (liniștit), în volum limitat și redus în aer liber,

÷ să se preteze la o introducere uniformă a probei,

÷ să nu elibereze gaze toxice.

Temperatura depinde de natura, dar şi de raportul componenților (carburant-comburant) care trebuie păstrat în limite optime şi constante.

Proba, după dizolvare, este adusă în flacără prin *pulverizare*, utilizându-se un *pulverizator* (sau *nebulizor*), iar picăturile fine evaporându-se brusc, provoacă apariția ionilor, respectiv a atomilor, care suferă excitări şi dezexcitări repetate. Simultan cu acestea mai au loc fenomene de ionizare, asocieri de ioni, autoabsorbția şi difuzia (împrăştierea luminii). Să explicăm pe scurt fiecare din acestea. Ionii au alte nivele decât atomii. Apariția *ionizării* micşorează numărul atomilor, deci sensibilitatea metodei. *Autoabsorbția* constă în utilizarea luminii emise pentru excitarea propriilor atomi, ceea ce micşorează lumina emisă şi sensibilitatea şi stabilitatea semnalului la concentrații mari. Acest lucru se petrece în zonele reci, deci străbătute obligatoriu de lumină. *Difuzia* este fenomenul de împrăştiere a luminii ce dă un semnal distorsionat în cazul prezenței acesteia în proba pentru analiză în timp ce lipseşte din proba etalon.

Numărul atomilor excitați creşte cu temperatura datorită ecuației amintite la *spectrometria de absorbție atomică*, lucru ce se poate observa şi din tabelul 2, pentru câteva elemente curent analizate prin spectrometria în flacără.

Tabelul 2. Creşterea sensibilității determinării în funcție de temperatura flăcării

Element	λ, nm	N_n - numărul atomilor excitați la valorile T		Energia de excitare, eV	Energia de ionizare, eV
		2100 K	2500 K		
Li	670.8	$9.5.10^{-5}$	5.10^{-4}	1.85	5.4
Na	589.0	$2.3.10^{-5}$	$1.5.10^{-4}$	2.10	5.14
K	766.5	$3.6.10^{-3}$	$1.5.10^{-3}$	1.61	4.34
Mg	404.4	$1.1.10^{-7}$	$1.7.10^{-9}$	4.35	7.64
Ca	422.7	$2.3.10^{-7}$	$3.2.10^{-6}$	2.93	6.11

Carburanții cei mai întâlniți în cadrul metodei sunt oxidul de carbon, hidrogenul, metanul, propan - butanul şi acetilena iar comburanții pot fi aerul sau oxigenul. Se poate observa că sunt aceiaşi cu cei utilizați în AA pentru temperaturi joase (tabelul 2).

Aparatura constă, ca părți principale, din următoarele (fig. 9): un pulverizator pneumatic (2), cu ajutorul căruia soluția etalon sau, după caz, de analizat conținută în paharul (1) este adusă în arzătorul (3) alimentat cu aer sau oxigen de la o sursă (de exemplu un cilindru sub presiune) unde arde cu o flacără - (4) - gazul combustibil. Radiația emisă, mai exact spectrul emis, este monocromat cu ajutorul filtrului sau monocromatorului, care selectează lungimea de undă dorită. Curentul fotoelectric ce ia naştere în fotomultiplicator (5), este amplificat de un amplificator (6) şi înregistrat (7).

Temperatura flăcării, reglabilă între 1000-3000°C, permite obținerea de rezultate analitice utile pentru alte 30 de elemente în afara celor amintite. Totuşi metoda se utilizează cu prioritate pentru metale alcaline şi alcalino - pământoase, care au toate energiile de excitare (şi totodată de ionizare) cele mai coborâte. Liniaritatea curbei de etalonare depinde de condițiile tehnice:

÷ uniformitatea pulverizării,

÷ temperatura flăcării (depinde de presiunea constantă a gazelor şi lipsa curenților de aer),

÷ prezența elementelor însoțitoare (cationi dar mai ales anioni),

÷ autoabsorbția liniei spectrale analitice (mai ales la nivele de concentrație ridicată) şi

÷ ionizarea, deci modificarea poziției liniilor (lucru frecvent la concentrații mici).

Determinările cantitative se efectuează prin metoda *curbei de etalonare* sau cea a *adaosului standard*, descrise anterior.

Utilizarea *spectrometrului cu două canale* (vezi fig. 11) permite ca erorile datorate fondului flăcării (ca variații bruşte ale temperaturii, ale debitelor soluției de probă etc.) să fie înlăturate prin *metoda etalonului intern*, utilizând două canale simultan.

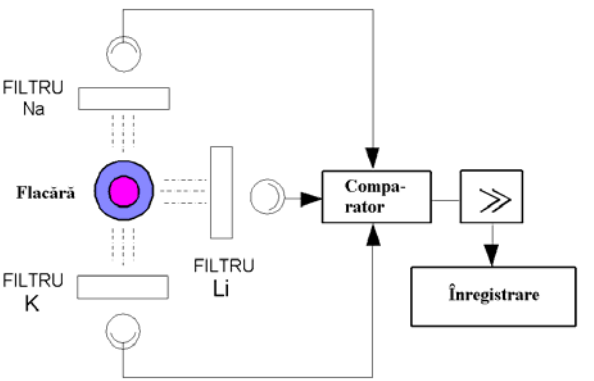


Fig. 11. Instalație pentru aplicarea metodei etalonului intern

De exemplu, pentru determinarea sodiului (sau a potasiului) se utilizează drept etalon intern litiul. În jurul flăcării se plasează cele trei filtre plus fotodetectorii respectivi. Semnalul obținut pentru litiu este schimbat ca semn şi însumat cu semnalele celorlalte două. Orice variație de semnal pentru Li va compensa aceeaşi variație înregistrată de fotocelulele pentru Na sau K - semnalul final depinzând doar de concentrația acestora, nu şi de modificări ale fondului flăcării.

Întrebări de verificare

1. Care sunt domeniile de lungimi de undă în care se pot obține linii spectrale în spectrometria de emisie?
2. Care sunt elementele pentru care nu este recomandată spectrometria de emisie?
3. Ce este un etalon intern și care este rolul său?
4. Care este cea mai veche sursă spectrală cunoscută în spectrometria optică de emisie optică?
5. Sub ce formă se poate plasa proba în arcul electric?
6. Cum se introduce proba în spectrometria cu plasmă cuplată inductiv?
7. Ce este spectrometria cu descărcare aureolară?
8. Care este fenomenul care generează plasma, cel mai frecvent?
9. De ce se utilizează sursa de excitare cu laser?
10. Ce avantaj prezintă flacăra în calitate de sursă de excitare?
11. Ce este un tampon spectral?
12. Care este forma ecuației utilizate în analiza cantitativă?
13. Care sunt elementele pentru care metoda spectrometriei în flacără este recomandabilă?
14. Cum se aduce proba lichidă în flacără în această metodă?
15. Ce fenomene secundare diminuează semnalul în fotometria de flacără?
16. Ce factor mărește, pentru aceeași probă, numărul atomilor excitați?

Nu putem vedea bine decât cu inima; esențialul este invizibil ochilor
Antoine de Saint-Exupery (1900 - 1944), în romanul Micul Prinț

Fluorimetria şi spectrometria de chemiluminescență

Fluorescență, luminescență, fosforescență

Anumite combinații chimice, aflate mai ales în soluție sau în stare solidă, în urma excitării moleculelor cu radiații din domeniile vizibil şi UV apropiat, reemit o parte din energia primită sub formă de radiație luminoasă - adesea vizibilă. Această reemisie se numeşte *fluorescență*. Maximul radiației de fluorescență este situat de obicei la o valoare a lungimii de undă mai mare decât maximul piculuі radiației care a provocat excitarea, diferența de energie corespunzătoare transformându-se în căldură, fiind disipată în mediu.

Simplificat, acest fenomen poate fi reprezentat conform schemei din fig. 1.

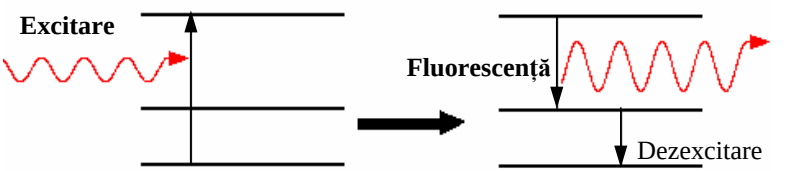


Fig. 1. Schema procesului de apariție a fluorescenței. Radiația incidentă are lungimea de undă mai mică decât cea emisă

După excitare, intensitatea luminii emise de către atomi, F, scade exponențial în timp respectând o ecuație de forma:

$$F = I_0 \cdot e^{-k_f t}$$

unde F este radiația de fluorescență produsă de către o substanță, I_0 - intensitatea radiației incidente, k_f - o constantă caracteristică substanței (analogă constantei de viteză) iar t - timpul.

Trebuie făcută o distincție între *fluorescență*, care corespunde unei scăderi rapide a intensității luminoase emise şi *fosforescență* - la care scăderea în timp este cu mult mai lentă. De aceea o specie moleculară poate fi, deodată, atât fluorescentă cât şi fosforescentă. Pe de altă parte, *luminescența* este tot o reemisie de lumină dar aceasta are la origine energia unei reacții. Această energie nu se degajă sub formă de căldură (ca în majoritatea cazurilor) ci sub formă de energie radiantă. De fapt o putem considera ca pe o excitare a electronilor cu ajutorul căldurii de reacție.

Timpul de viață a unei specii moleculare excitate, τ_0, se definește chiar cu ajutorul constantei de viteză k_f din relația precedentă:

$$\tau_0 = 1/k_f$$

După acest timp intensitatea reziduală nu reprezintă decât 36.7% din cea inițială adică peste 60% dintre moleculele excitate au revenit la starea neemisivă. De aceea fluorimetria lucrează în regim staționar - excitarea având loc pe tot parcursul măsurătorii - pe când fosforescența, la care diminuarea intensității în timp este mult mai lentă, se studiază doar după ce a încetat faza de excitare.

Fluorescența, riguros vorbind, implică emisia de radiație prin tranziția între două niveluri care au aceeaşi multiplicitate (de exemplu singlet la singlet sau triplet la triplet). Dacă tranziția are loc între două niveluri de multiplicitate diferită, aceasta poartă numele de luminescență.

Metodele de analiză bazată pe fluorescență nu sunt general aplicabile oricăror substanțe. Dar, toate metodele analitice bazate pe atât pe fluorescență cât şi pe şi luminescență pe lângă că sunt foarte specifice sunt şi foarte sensibile. De exemplu, putem aminti că limita de determinare a unei metode fluorimetrice, pentru o anumită combinație chimică, este de circa 1000 de ori mai coborâtă decât cea a unei metode prin absorbție în vizibil sau în ultraviolet. De aceea, din această categorie de metode există câteva extrem de utile în analiza şi monitorizarea unor poluanți ai mediului.

Deşi am amintit la început că fluorescența apare în stările lichidă şi solidă, anumite gaze, de exemplu aflate în atmosfera terestră, pot fi determinate cantitativ prin fluorescența indusă de excitarea cu un puls de durată foarte mică (1μsec) cu ajutorul unui laser de mare putere (dispozitiv cunoscut sub denumirea de *lidar*).

Întrucât nivelul radiației de luminescență nu este întotdeauna foarte ridicat, există două tipuri de instrumente diferite: fluorimetre şi spectrometre de chemiluminescență. Ultimele şi-au găsit aplicații în domeniul analizelor N sau S din materiale precum şi în monitorizarea NO_x, H_2S din aer precum şi în studiile, respectiv analizele fenomenelor de îmbătrânire a materialelor plastice.

Bazele fizice ale fluorescenței

Din punct de vedere fundamental, fluorescența compușilor moleculari (de interes pentru analiza chimică) se poate înțelege ca o absorbție de radiație UV-VIS urmată de o serie de tranziții energetice între ultimii orbitali ocupați, în starea fundamentală a moleculei, şi primii orbitali externi vacanți. Inițial moleculele se află în repaos, în starea fundamentală, notată S_0 (fig. 2). După absorbția unui foton incident electronii trec în starea S_1 - prima stare de tranziție electronică, excitată. Apoi, foarte rapid (10^{-12}s), are loc un proces denumit *conversie internă*, prin care moleculele suferă rearanjări, fără a emite fotoni, timp în care electronii ajung în starea caracterizată prin numărul de vibrație V_0 a stării electronice următoare, S_1. Abia apoi intervin tranzițiile de fluorescență (timp de 10^{-9}-10^{-7}s) în urma cărora moleculele revin pe unul din nivelele notate V_0, V_1, ... (stări energetice de vibrație caracterizate fiecare prin numărul de vibrație respectiv, V_i) - aparținând nivelului inițial S_0 [91].

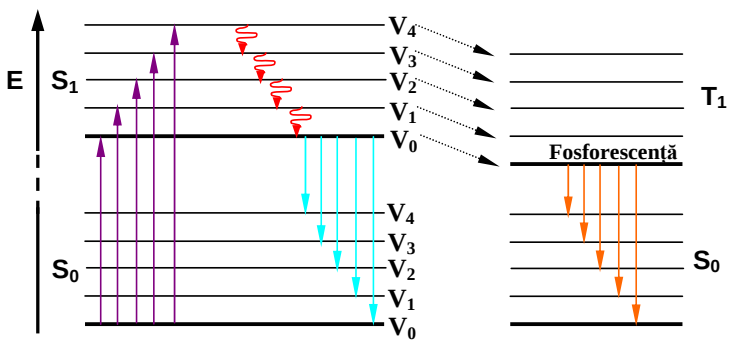


Fig. 2. Diagrame energetice prezentând comparativ fluorescența şi fosforescența. Săgețile scurte simbolizează conversii interne fără emisie de fotoni. S = singlet; T = triplet; V_1 … V_4 = numere cuantice de vibrație şi totodată notații ale stărilor de vibrație

Se poate observa (fig. 2) că moleculele pot păstra o parte din energia lor sub formă de energie de vibrație. Acest exces de energie urmează a fi disipat în mediul înconjurător prin coliziuni mecanice sau alte procese neradiative cunoscute sub denumirea de *relaxare vibrațională*. Se mai poate uneori totuşi produce şi o emisie de fotoni, evident mai săraci în energie, care stau la baza unei fluorescențe situate în IR apropiat.

Spectrul de absorbție şi cel de fluorescență pentru diferiți compuşi prezintă (cu o bună aproximație) o simetrie, unul reprezentând aproape imaginea în oglindă a celuilalt. Cum e şi

[91] S0, S1, T1 ... reprezintă *stări electronice* (nivele energetice), iar V0, V1, ...*nivele energetice de vibrație* caracterizate fiecare de un număr cuantic de vibrație uneori notat tot V0, V1,... . S şi T sunt prescurtări amintind sensurile de *singlet*, respectiv de *triplet*.

firesc absorbția este situată la lungimi de undă mai mici, respectiv în conformitate cu ecuațiile: $E = h \cdot \nu = h \cdot c/\lambda$, la valori ale energiei, E, mai ridicate (fig. 3).

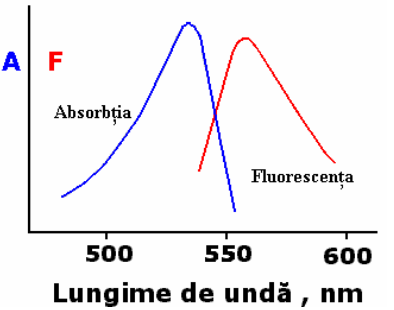


Fig. 3. Poziţiile relative ale absorbţiei şi fluorescenţei în cazul eozinei. Se remarcă o zonă de lungimi de undă comună

Fosforescența, pe lângă faptul că însoţeşte o reacție chimică, analog luminescenței, corespunde şi unui mod diferit de revenire la starea fundamentală. După faza de absorbție o dată cu transferul unui electron pe nivelul S_1 (prima stare electronică excitată după cea fundamentală - o stare de singlet) are loc, dacă relaxarea vibrațională se produce suficient de lent, modificarea spinului electronului la o stare de triplet, notat T_1 (fig. 2), ceva mai stabilă (metastabilă). Din acest motiv, revenirea la starea fundamentală este încetinită, deoarece implică o nouă modificare de spin a acestui electron. Ca urmare, durata stării excitate în fosforescență poate fi de 10^8 ori mai mare decât în fluorescență.

Se cunosc câteva reguli privind legătura dintre structura compuşilor organici şi fluorescența acestora:

÷ Moleculele organice *care nu absorb puternic lumina peste 200 nm în general nu sunt fluorescente*.

÷ Moleculele care au banda de absorbție corespunzătoare tranziției: $S_0 \rightarrow S_1$ (v. fig. 1), localizată la λ = 250nm şi pentru care absorbția luminii se datoreşte unei tranziții ($\pi\pi'$) sunt fluorescente.

÷ Substituenții - donori de electroni - grefați pe un sistem π-delocalizat măresc întotdeauna absorbția luminii, intensificând fluorescența. În acest sens, se pot aminti, de exemplu, funcțiunile: OH > OR > NH_2.

÷ Grupele funcționale puternic atragătoare de electroni (grefate la sistemul $\pi\pi'$) tind să reducă fluorescența moleculei respective. În plus prezența, alături de acestea, a unor grupări donoare de electroni, tinde să diminueze fluorescența (şi nu să o intensifice).

În consecință, moleculele organice care au cel puțin două legături π conjugate și care conțin și o bandă de absorbție la $\lambda > 200$nm, cu un coeficient de absorbție $\varepsilon \geq 10^3 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, prezintă fluorescență și pot fi analizate fluorimetric. De exemplu, compușii moleculari ciclici cu sisteme π conjugate (fig. 4), care mai posedă grupări funcționale donoare de electroni, se pretează foarte bine la acest tip de determinări.

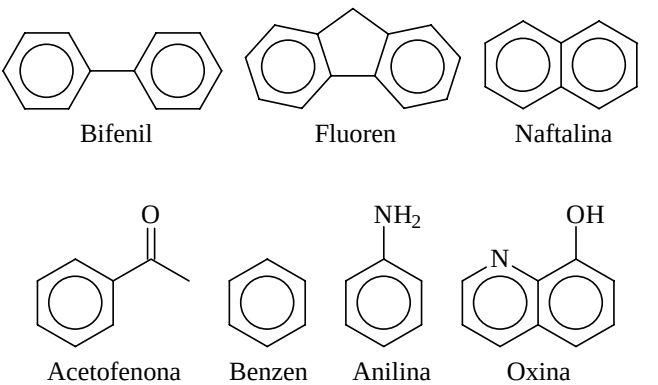


Fig. 4. Diverşi compuşi fluorescenți aromatici. Oxina (8-hidroxichinoleina) formează combinații complexe fluorescente cu numeroşi ioni metalici

Intensitatea fluorescenței

Semnalul analitic în fluorimetrie îl constituie *intensitatea fluorescenței*, F. Valoarea acesteia depinde atât de poziția punctului de unde este emisă radiația cât și de pozițiile fantelor de intrare și ieșire din celula de măsură. Astfel, o parte a radiației incidente (excitante) este absorbită de către lichidul din celulă înainte de a atinge *punctul de emisie* iar o parte a radiației de fluorescență, o dată emise, este absorbită de aceeaşi soluție, înainte ca aceasta să părăsească celula. Asadar, intensitatea radiației de fluorescență care atinge detectorul corespunde unui volum de soluție relativ mic prezent în spațiul delimitat de proiecțiile ferestrelor de intrare și ieșire din celulă.

Fenomenul de diminuare a intensității luminoase - numită impropriu *filtrare internă* - se datorește mai ales suprapunerii parțiale a spectrelor de fluorescență și de absorbție (fig. 3). În afară de absorbția propriu zisă, denumită și *diminuare prin culoare*, mai pot interveni transferuri de energie de la molecule excitate la alte molecule sau la ioni străini din celulă, în urma unor coliziuni sau formări de complecși. Acest fenomen se numește *diminuare chimică*. De exemplu, prezența oxigenului atmosferic provoacă o diminuare suplimentară de fluorescență.

De aceea, pentru soluții, se definește o mărime denumită *randamentul fluorescenței*, Φ_f, cuprinsă între 0 și 1 - un parametru independent de intensitatea sursei:

$$\Phi_f = (\text{Numărul de fotoni emiși})/(\text{Numărul de fotoni absorbiți}) \quad (1)$$

Se poate observa că această mărime reprezintă fracția radiației incidente absorbite, care este reemisă sub formă de fluorescență. Cu ajutorul acesteia, în soluții diluate, se poate scrie o ecuație a intensității fluorescenței, F. În primul rând trebuie să se țină cont de factorii care determină absorbanța, A, cât și de lungimea, notată cu b, a parcursului radiației de fluorescență prin celulă. În consecință expresia intensității fluorescenței se poate scrie:

$$F = \Phi_f \cdot I_0 \cdot A \cdot b \quad (2)$$

unde cu I_0 s-a notat intensitatea radiației incidente, A - absorbanța soluției ($A = \varepsilon \cdot l \cdot C$) iar b - lungimea parcursului radiației de fluorescență prin celula de măsură. Înlocuind A avem:

$$F = \Phi_f I_0 \varepsilon l b C \quad (3)$$

unde C este concentrația molară a soluției. Înglobând toate constantele care depind de celulă, respectiv de soluție, într-o singură constantă, K, obținem o ecuație mai simplă:

$$F = K I_0 C \quad (4)$$

Pe baza acestei ecuații se poate găsi experimental o curbă de etalonare în coordonatele F, C care este o dreaptă (fig. 5 - stânga). Desigur că aceasta este valabilă doar în soluții diluate, întrucât s-a constatat că poate suferi modificări accentuate la concentrații superioare (fig. 5 - dreapta) tocmai din cauzele amintite.

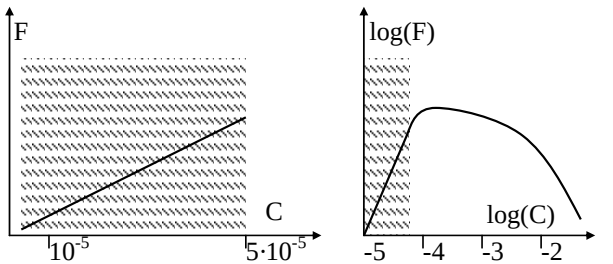


Fig. 5. Relația liniară dintre intensitatea fluorescenței, F, și concentrația C. Domeniul liniar este relativ îngust iar la concentrații ridicate liniaritatea dispare

Aparatura

Deoarece proba spusă analizei emite radiația de fluorescență în toate direcțiile, pe fotodioda sau fotomultiplicatorul instrumentului folosit cad doar radiațiile care vin în direcția acestuia, în timp ce restul se pierd. De aceea suprafața senzorului care preia radiația trebuie să fie cât mai mare. *În general se măsoară radiația care părăseşte celula sub un unghi de 90° față de radiația incidentă*. Pentru soluții cu absorbanță ridicată studiul se poate realiza şi în prelungirea fascicolului incident. Pentru soluții semiopace se preconizează o observare sub un unghi variabil între 90-180°. Geometria fluorimetrelor poate fi sintetizată prin schema din fig. 6.

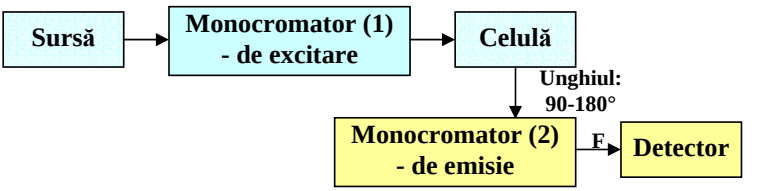


Fig. 6. Geometria unui spectrofluorimetru actual; unghiul preferat de observare a fluorescenței este 90°; F = fanta

Sursele optice ale fluorimetrelor actuale emit un spectru luminos continuu. Au devenit uzuale următoarele lămpi folosite în calitate de surse:

÷ Lămpile cu arc de deuteriu (190-400nm),

÷ Lămpile cu arc de xenon (200-850nm),

÷ Lămpile cu arc de wolfram (380-700nm).

Se mai utilizează şi lămpile cu vapori de mercur care produc linii spectrale intense (la 254, 313 şi 365nm). Acestea, pot fi izolate individual folosindu-se nişte simple filtre optice. De asemenea au mai apărut surse cu laser heliu-cadmiu (325nm, 5-10mW) care de asemenea necesită un filtru optic şi impun folosirea unor fotomultiplicatori.

Constructiv se pot distinge două tipuri de fluorimetre: (1) bazate pe determinarea raportului fluorescențelor şi (2) spectrofluorimetre.

Fluorimetrele bazate pe determinarea raportului fluorescențelor (fig. 7) după ce selectează radiația excitantă optimă, găsită prin încercări preliminare, radiația incidentă este despărțită, de o oglindă semitransparentă, în două raze: una care cade pe probă (aflată în celula de măsură) iar cealtă pe o fotodiodă. Din celula de măsură iese radiația de fluorescență, care se observă la un unghi de 90° față de cea incidentă. Un al doilea monocromator, denumit *de emisie*, selectează radiația dorită, de regulă cea mai intensă. Proba poate fi înlocuită cu un etalon metrologic pentru reglaje. Folosirea celor două fotodiode în opoziție elimină fluctuațiile de intensitate inerente oricărei surse bazate pe arc electric. Calculul concentrației

necunoscute se face pe baza ecuației F = KI_0C în care KI_0 este o constantă pentru orice pereche de valori C, F. Rezultă:

$$C_{nec} = C_{et} \cdot \frac{F_{nec}}{F_{et}}$$

unde C_{nec} este concentrația probei necunoscute, I_{nec} - intensitatea fluorescenței probei necunoscute, C_{et} - concentrația probei etalon, cunoscute şi I_{et} - intensitatea fluorescenței pentru proba etalon - cunoscută.

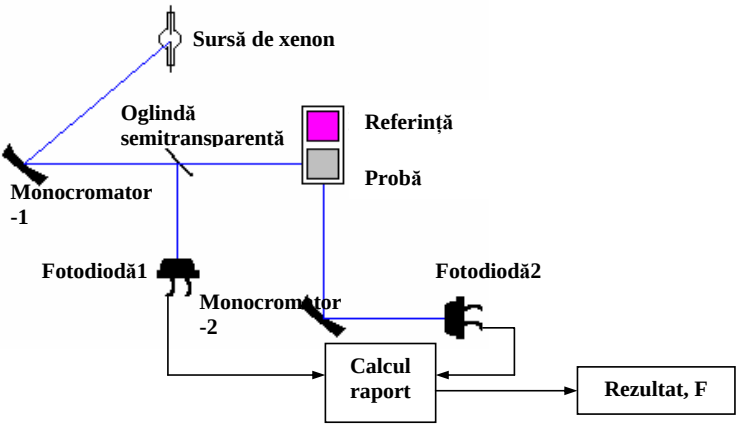


Fig. 7. Schema unui spectrofluorimetru cu doi detetectori care elimină deriva sursei

Spectrofluorimetrele permit, pe lângă cele amintite anterior la fluorimetre, obținerea unor spectre de fluorescență. Fiecare din cele două monocromatoare baleiază întreg domeniul spectral. Pentru fiecare valoare a radiației excitante există un spectru de fluorescență separat. Pentru tot domeniul se obține o familie de spectre care caracterizează în mod unic o combinație chimică sau un material fluorescent. Cu ajutorul acestora se pot selecționa condițiile optime de lucru pentru o determinare de rutină.

Aplicații

Există un număr mic de molecule care posedă o *fluorescență naturală*. Acestea pot fi analizate cantitativ prin fluorimetrie dacă se dispune de substanța pură (etalon). Numărul acestora este foarte mic (5-8% din total). Pe de altă parte, așa cum există reactivii de culoare, există și o serie de *reactivi de fluorescență* care duc, în urma unei reacții chimice, la produși fluorescenți. Din primul grup de metode amintim analiza hidrocarburilor policiclice aromatice din ape, în urma separării acestora prin cromatografie. Tot în categoria acestui prim grup intră și determinarea aflatoxinelor - niște agenți cancerigeni prezenți în alimente dar și o serie de alte substanțe importante cum ar fi steroizi și vitamine. Din a doua grupă de metode amintim determinările unor cationi metalici cum ar fi Be^{2+} cu reactivul morină sau unii complecși ai metalelor trivalente cu oxina (8-oxichinoleina).

Determinarea dioxidului de sulf (SO_2) prin fluorimetrie în UV

Se bazează pe excitarea moleculelor de SO_2 din probă cu o lampă UV pulsatorie (având o frecvență de 20kHz) cu $\lambda < 214$nm. Moleculele de SO_2 emit prin excitare o fluorescență cu lungimea de unda de 214nm, foarte specifică. Această metodă stă la baza celor mai performanre analizoare de SO_2 permițînd determinarea 1ppb în aer. Mai mult, folosindu-se cuptoare de conversie oxidative prin care H_2S este convertit la SO_2 se pot construi analizoare atât pentru SO_2 cât și pentru H_2S.

O scemă de principiu a analizorului pentru SO_2 prin fluorescență în UV este prezentată în fig. 8.

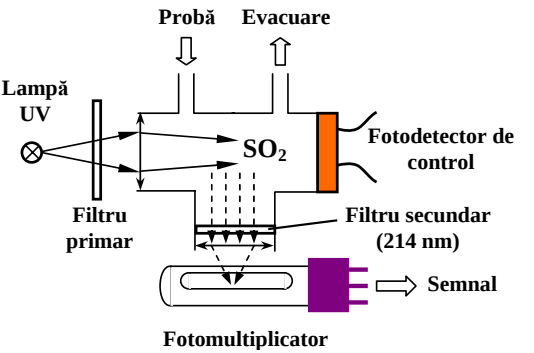


Fig. 8. Schema de principiu a analizorului pentru dioxid de sulf bazat pe fluorescență în UV

Chemiluminescența

Există reacții chimice care sunt însoțite de emisie luminoasă. O astfel de substanță este luminol-ul care poate reacționa cu ferul (II) și permite punerea în evidență a unor concentrații mici din acest element.

O astfel de reacție este și cea utilizată pentru determinarea monoxidului de azot, NO în amestec cu dioxidul de azot, NO_2. Acești oxizi rezultă prin arderea combustibililor la temperaturi ridicate în prezența azotului din aer și constituie poluanți ai aerului. Metoda are la bază reacția de oxidare a NO cu ozon rezultând, într-o primă fază, NO_2^* (adică o formă excitată a dioxidului de azot) - o specie chimică luminescentă. Pentru determinarea compoziției amestecului NO plus NO_2 se procedează astfel. Pe o fracțiune cunoscută din proba de aer (1 pe fig. 8) tot dioxidul de azot este redus la monoxid și în urma reacției cu ozonul se determină NO + NO_2. Pe o altă fracțiune, (2), se determină prin aceeași metodă doar NO (NO_2 prezent, nefiind în stare excitată, nu prezintă luminescență). Apoi, prin diferență se determină NO.

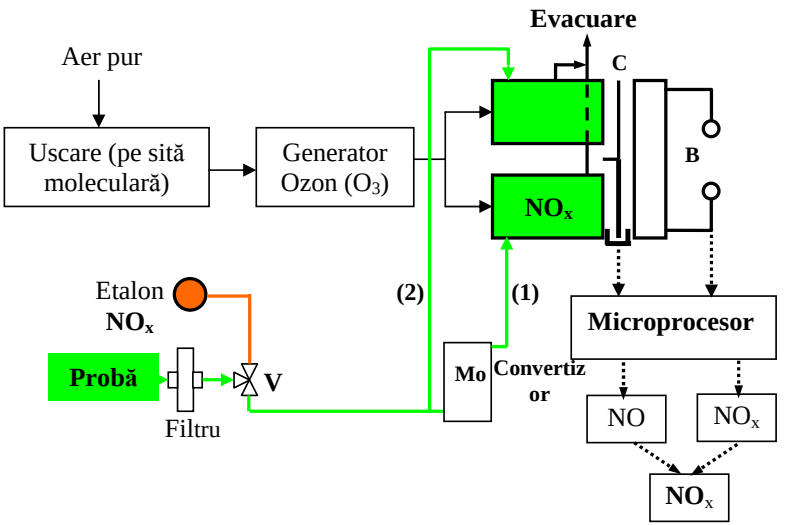


Fig. 8. Reprezentarea schematică a utilizării metodei măsurării luminescenței pentru monitorizarea oxizilor de azot din aer

Un astfel de monitor NO_x este prezentat schematic în fig. 8. Proba de aer este în prealabil filtrată pe un filtru și se desparte prin două conducte. Pe drumul (1) există o etuvă-convertizor care conține o coloană umplută cu pulbere de molibden. La încălzire, Mo din coloană provoacă reducerea doar pentru dioxidul de azot:

$$NO_2 + Mo \rightarrow NO + MoO_3$$

Deci, pe drumul (2) gazul rămâne nemodificat iar pe drumul (1) amestecul este convertit integral la NO. Apoi, fracțiunile (1) şi (2) intră în cele două celule de luminescență, ambele alimentate cu ozon (O_3) - produs de un ozonizator (inclus în instalație). În celule au loc exact aceleaşi reacții:

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + O_2$$

$$NO_2^* \rightarrow NO_2 + h\nu$$

Luminescența este emisă *doar de dioxidul de azot proaspăt obținut* (fiind în stare excitată - notată *), apărut prin reacția amintită anterior, având lungimea de undă $\lambda = 1.2\mu m$ (1200nm), situată în infraroşul apropiat. Semnalele de la cele două celule ajung alternativ la blocul fotomultiplicator B - durata fiind determinată de poziția chopper-ului (notat C). O perioadă de timp se înregistrează semnalul din celula NO_x şi o altă perioadă, cel din celula NO (fig. 8). De aici semnalul este preluat de un microprocesor şi transformat în concentrație rezolvându-se ecuația:

$$F = K \cdot C_{NO} \qquad (5)$$

Pentru a se putea determina concentrația NO, pe baza semnalului F măsurat, este necesară cunoaşterea prealabilă a valorii K. Această constantă se determină, înainte de analiză, prin introducerea în cele două celule a unui gaz-etalon, format din aer şi un amestec cunoscut de NO + NO_2 - conținut într-un cilindru sub presiune, legat la aparat. După evaluarea K se determină pe o probă necunoscută concentrația C_{NO} şi separat, $C_{NO} + C_{NO2}$ (notat in mod uzual NO_x - fig. 8). În final, prin diferență se determină C_{NO2}. Metoda serveşte atât pentru monitorizarea NO şi NO_2 din aer cât şi la determinări ale conținutului de azot cu ajutorul unor analizoare specializate de azot şi sulf. În acestea din urmă sulful se determină tot printr-o reacție de luminescență şi tot în prezența ozonului:

$$O_3 + H_2S \rightarrow H_2O + SO_2^*;$$

$$SO_2^* \rightarrow SO_2 + h\nu \text{ (luminescență în UV apropiat)}$$

Întrebări de verificare

1. Ce este fluorescența?
2. Prin ce se deosebește fluorescența de fosforescență?
3. Ce este un reactiv de fluorescență?
4. Ce fenomen fizic stă la baza luminescenței?
5. Ce avantaje și ce dezavantaje prezintă metodele fluorimetrice?
6. Care fenomen este situat la lungimi de undă mai mici, pentru aceeași substanță, absorbția sau fluorescența?
7. Care sunt principalele reguli care guvernează apariția fluorescenței?
8. Ce este intensitatea fluorescenței și care sunt factorii care o determină?
9. În ce coordonate se construiește o curbă de etalonare în fluorimetrie?
10. Ce surse optice se folosesc în fluorimetrie? Dar în metodele prin luminescență?
11. Ce tipuri de instrumente analitice cunoașteți în fluorimetrie?
12. Ce gaze, având mari implicații în protecția mediului, se pot monitoriza prin metodele fluorescenței și luminescenței?
13. Ce metode generale de analiză prin fluorescență cunoașteți?

Întregul este mai mult decât suma părților
Aristotel (384-322 î.e.n.)

Nefelometria şi turbidimetria

Principii generale

Difuzia luminii reprezintă fenomenul de împrăştiere a luminii datorat neomogenităților mediului - indiferent dacă este vorba de un mediu gazos, lichid sau solid.

Atât nefelometria cât şi turbidimetria reprezintă aplicații analitice ale fenomenelor asociate difuziei luminii (fig. 1). Astfel, la trecerea luminii printr-un mediu dispers, heterogen (sistem coloidal), dacă neglijăm lumina reflectată, putem scrie ținând cont de difuzia şi absorbția luminii:

$$I_0 = I_a + I_d + I \qquad (1)$$

unde s-a notat cu I_0 - intensitatea luminii incidente, I_a - intensitatea luminii absorbite, I_d - intensitatea luminii difuzate şi I - intensitatea luminii transmise.

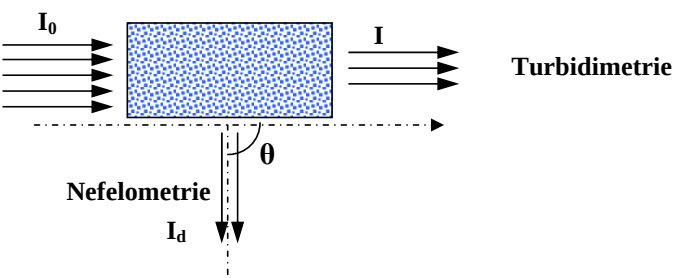


Fig. 1. Reprezentare schematică a fenomenului de difuzie a luminii şi a tehnicilor bazate pe acest fenomen

Din punct de vedere al analizei instrumentale a apelor, prezintă interes fenomenul de difuzie a luminii datorită solidelor suspendate în lichide (*suspensii*) sau lichide în lichide (*emulsii*). Intensitatea radiației difuzate de către particulele de dimensiuni mici (particule având diametrul mai mic decât λ/10, unde cu λ s-a notat lungimea de undă a luminii incidente [92]) respectă ecuația lui Rayleigh [93]:

$$I_d = I_0 k \frac{Nv^2}{\lambda^4 R^2} \qquad (2)$$

unde I_d este intensitatea radiației difuzate, I_0 - intensitatea radiației incidente, N - numărul de particule din unitatea de volum, v - volumul unei particule, λ - lungimea de undă a radiației, R - distanța până la observator iar k este o valoare dependentă de unghiul θ sub care se priveşte

[92] Un astfel de sistem (*coloidal*) are dimensiunile particulelor în domeniul 10-6 - 10-9 m.
[93] http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/atmos/blusky.html#c2

radiația care părăsește celula - conținând un lichid cu indicele de refracție, n. Valoarea k se poate exprima:

$$k=\frac{9\pi}{2}\cdot\frac{n^2-n_1^2}{n^2+2n_1^2}(1+\cos^2\theta) \qquad (3)$$

unde cu n și n_1 s-au notat indicii de refracție ai particulei respectiv ai mediului în care este suspendată particula. Se poate observa că relația permite calculul valorii N când s-ar cunoaşte toți ceilalți parametri. Cum N este proporțional cu concentrația se poate trage concluzia că intensitatea luminii difuzate, I_d, este proporțională cu concentrația particulelor, respectiv cu cea a soluției din care provin acestea.

În afară de cele două tehnici amintite există și alte aplicații importante ale difuziei luminii în evaluarea cantitativă a maselor moleculare ale substanțelor macromoleculare (polimerilor) din soluție sau în analiza granulometrică a pulberilor suspendate în lichide sau chiar în gaze.

Nefelometria

Nefelometria este o tehnică de analiză instrumentală bazată pe măsurarea intensității luminii difuzate, I_d datorate unei anumite specii chimice, greu solubilă în mediul lichid şi având o granulație fină (sistem coloidal). Lucrând la un unghi θ cunoscut, pe un amestec cunoscut de substanțe şi într-un mediu cu indice de refracție constant, la o finețe ridicată a particulelor (la o dimensiune apropiată de lungimea de undă a luminii incidente) ecuația lui Rayleigh devine:

$$I_d = I_0 \cdot K c v^2 \qquad (4)$$

unde c este concentrația substanței în suspensie, v - volumul particulelor iar K o constantă de proporționalitate. În vederea analizei chimice, evident, se recurge la o curbă de etalonare liniară: $I_d = f(c)$. Unghiul de măsurare depinde de finețea particulelor. Când aceasta este mică se recurge la un unghi de 45° sau 90°. Când finețea este moderată se măsoară lumina transmisă, adică θ = 0° iar când particulele sunt foarte mari sau concentrația mai ridicată, se preferă unghiuri mari, adică se măsoară deviația înapoi a luminii (*retrodifuzia*).

Pentru a se putea aplica metoda, în prealabil se precipită ionii elementului de analizat. Acest lucru se realizează prin adaosul unui *reactiv de precipitare*, astfel încât să apară o combinație greu solubilă, dar într-o concentrație potrivită şi anume întreaga cantitate precipitată să ajungă doar în perioada inițială de formare a precipitatului. După cum se ştie, că condiția de apariție a unui precipitat MA, rezultat prin combinarea unui cation M^+ cu un anion A^-, este dată de produsul:

$$[M^+] \cdot [A^-] > K_{MA} \qquad (5)$$

unde K_{MA} este produsul de solubilitate - o constantă cunoscută pentru un compus greu solubil (la o temperatură dată). Evident, metoda se poate aplica pentru oricare din ionii care pot lua parte la o reacție de precipitare, de exemplu perechile de anion şi cation: (SO_4^{2-}; Ba^{2+}), (Cl^-; Ag^+) sau ($C_2O_4^{2-}$; Ca^{2+}) etc.

Orice proces de precipitare depinde de mai mulți factori ca: natura reactivilor, concentrația acestora, temperatura, pH-ul, viteza de adăugare a reactivilor, agitarea şi mediul de reacție. Este deosebit de dificil de reprodus întocmai toate aceste condiții. Peste toate acestea, nu trebuie uitat că sistemul coloidal (microeterogen) apărut nu este stabil. Pentru a se stabiliza sistemul, se recurge la încetinirea proceselor de difuzie - adică a deplasării particulelor (ceea ce micşorează probabilitatea ciocnirilor) prin mărirea viscozității mediului. Pe de altă parte, alături de electroliții din reactivii participanți la reacția de precipitare, se mai introduce un electrolit tare care, prin sarcina superficială creată, va micşora viteza de coagulare.

Turbidimetria

Tubidimetria este tehnica nefelometrică în care unghiul de observație este zero - adică măsurarea se face în lumina transmisă. Pentru aceste determinări pot fi folosite tot spectrofotometrele din domeniul vizibil dar sunt preferate instrumente specializate denumite *turbidimetre*. Până nu demult, se utilizau ca surse luminoase lămpi cu filament din W, dar acestea consumă o cantitate mare de energie. În locul acestora, la aparatele de astăzi, se folosesc fotodiodele, care au o durată de viață mai mare, consum mai redus de energie şi sunt mai stabile. Unele aparate mai utilizează, de asemenea, tuburi bazate pe descărcări în gaze, cu xenon.

Ultimele două surse de lumină pot fi şi intermitente (prin utilizarea unui chopper), reducând şi mai mult energia folosind în circuitul de prelucrare a semnalului un curent alternativ, care permite o mărire a stabilității electronice. Frecvența pulsațiilor este în domeniul a 5-10Hz. Fereastra optică, se poate murdări dar acest lucru se poate compensa prin măsurarea periodică a absorbției în două lungimi de undă în apă pură, anulând variația. Unele instrumente includ sisteme de curățire automată fie ultrasonice, fie mecanice - utilizând un piston. Există modele de aparate care combină sistemul de difuzie laterală (90°) cu transmiterea directă a luminii. Aceste instrumente permit să se facă o distincție între lumina pierdută - datorită materialelor dizolvate în apă (dând o tentă colorată apei) - şi particulele în suspensie. Ambele categorii de materiale contribuie la atenuarea intensității razei incidente, dar numai particulele în suspensie provoacă difuzia luminii.

Lungimile de undă ale luminii utilizate în practică se întind de la domeniul vizibil la infraroşu şi ultraviolet (de exemplu, pentru măsurarea clorofilei sunt utilizate radiațiile UV). Domeniul infraroşu (IR) are avantajul că lungimile de undă mari nu penetrează mult sub suprafața apei (fiind absorbite) ceea ce conduce la reducerea interferenței cu lumina naturală. Transmisia IR este adecvată pentru distanțe reduse utilizate în instrumente pentru a măsura difuzia laterală sau *retrodifuzia* pe o distanță de câțiva centimetri. Filtrând lumina, astfel încât să sesizeze doar lungimile de undă necesare, se reduce în continuare efectul de interferență care apare în lumina naturală. În adâncul apei, lumina de la suprafață penetrează puțin astfel că se reduc influențele datorate luminii naturale.

În domeniul concentrațiilor mici mărimea măsurată este analogă absorbanței dar se numeşte turbiditate şi se notează cu S (analog cu înnegrirea):

$$S=\lg\frac{I_0}{I}=klc \qquad (6)$$

Se observă că legea este analogă cu legea Lambert-Beer dar k este o constantă empirică, l - lungimea parcursului prin stratul absorbant, iar c - concentrația. Înegrirea, S, este

de asemenea proporțională cu concentrația, c. Metoda de lucru constă tot în trasarea unei curbe de etalonare cu ajutorul unor soluții cu concentrații (turbidități) cunoscute. Dimensiunile particulelor nu au în analiza turbidimetrică o importanță decisivă, ca în nefelometrie. Dacă diametrul particulelor depăşeşte valoarea $0.1\cdot\lambda$ nu mai este însă respectată liniaritatea. Reproductibilitatea metodelor turbidimetrice este de ±5%. Cu toate acestea, uneori este o metodă indispensabilă mai ales în analiza apelor unde particulele în suspensie se determină pe această cale.

Un exemplu edificator privind modul de aplicare a metodei turbidimetrice pentru determinarea concentrației ionului sulfat dintr-o soluție apoasă, utilizând ca reactiv de precipitare clorura de bariu, va fi descris în cele ce urmează. Reacția pe care se bazează metoda este:

$$SO_4^{2-} + Ba^{2+} \rightarrow BaSO_4$$

Pentru a se mări selectivitate acesteia, adică pentru a se evita interferențe ale altor ioni prezenți în soluția de analizat, reacția se efectuează în mediu acid.

O primă etapă este construirea curbei de etalonare. În baloane cotate de 100ml se introduc cantități cunoscute de ion sulfat, pipetând 2, 4, 8, 12 şi 20 ml Na_2SO_4 0,2 $g\cdot L^{-1}$. Apoi, în fiecare balon se mai adaugă 20 ml soluție de electrolit (230g NaCl + 20ml HCl concentrat per litru) iar apoi se completează cu apă distilată la 60 ml. Se adaugă apoi în fiecare balon câte 15 ml $BaCl_2\cdot 2H_2O$ 10%, se omogenizează, se completează până la semn cu apă distilată şi peste exact 5 minute se măsoară absorbanța, folosind un filtru albastru, față de o probă martor care nu conține sulfat de sodiu.

Etapa următoare o constituie analiza propriu zisă. 10ml de probă, supusă analizei, eventual diluată în prealabil, se aduce într-un balon de 100ml, se adaugă tot 20ml electrolit şi se completează până la 40ml cu apă distilată. Apoi se adaugă 15ml de $BaCl_2\cdot 2H_2O$ 10% şi după omogenizare se aduce la semn cu apă distilată. Se aşteaptă 5 minute şi se măsoară absorbanța, în exact aceleaşi condiții. Se repetă proba de 2-3 ori, şi se calculează media citirilor absorbanței. Cu ajutorul acesteia, de pe curba de etalonare se determină concentrația probei necunoscute.

Metoda turbidimetrică, în afară de varianta directă, amintită anterior, se mai poate aplica şi în alte două variante. Una dintre acestea poartă denumirea de *cinetică turbidimetrică*. În această variantă, se determină viteza reacției, notată dx/dt unde cu x s-a notat concentrația produsului reacției de precipitare. Pentru momentul inițial se poate scrie ($\bar{k}$ este constanta de viteză iar cu $[c]_0$ s-a notat concentrația inițială a ionului de analizat iar cu $[R]_0$ concentrația inițială a reactivului de precipitare):

$$\frac{dx}{dt} = \bar{k} \cdot [c]_0 \cdot [R]_0 \qquad (7)$$

De regulă, în această variantă se măsoară viteza reacției în momentul inițial, când concentrația x este joasă, până în momentul atingerii unei variații de concentrații fixate Δx. În aceste condiții se poate scrie relația aproximativă:

$$\Delta x = \bar{k} \cdot [c]_0 \cdot [R]_0 \cdot \Delta t \qquad (8)$$

Măsurându-se de fiecare dată timpul şi absorbanța, până la atingerea unei valori fixate a acesteia, intervalul de timp Δt va fi proporțional cu Δx, deci şi cu concentrația ionului precipitat $[c]_0$. Lucrându-se pe soluții cunoscute, se construieşte mai întâi o curbă etalon Δt = f(c). Măsurând şi în cazul probei necunoscute intervalul de timp Δt, până la atingerea aceleiaşi turbidități (sau aceleiaşi absorbanțe, în cazul utilizării unui spectrofotometru), în condiții absolut identice, se poate evalua din curba de etalonare proba necunoscută.

O a doua variantă foarte mult aplicată este *titrarea turbidimetrică*. În această metodă se măsoară turbiditatea, S, în timpul adăugării cu viteză constantă a soluției conținând reactivul de precipitare, într-un volum V. Se reprezintă grafic curba S = f(V). Graficul are o formă apropiată de cele reprezentate în fig. 2. Din discontinuitatea observată se determină volumul de echivalență, care permite calculul pe baza celor arătate la metoda volumetrică. Graficul arată diferit pentru că uneori excesul de reactiv provoacă dizolvarea precipitatului format inițial iar alteori se micşorează solubilitatea pe baza efectului ionului comun asupra solubilității [94].

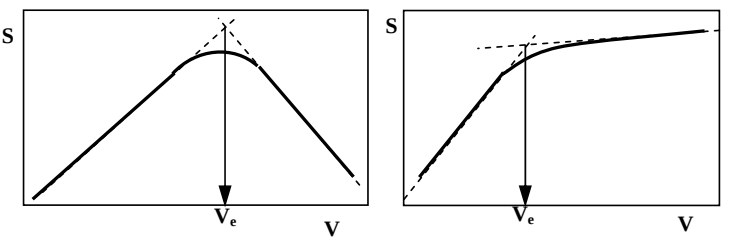


Fig. 2. Două variante ale aspectului curbelor de titrare turbidimetrică; V_e reprezintă volumul de echivalență

Etalonarea aparatelor pentru analizele apelor naturale se face, în mod obişnuit, utilizând *formazina* - un lichid tulbure, format prin amestecarea sulfatului de hidrazină cu o soluție de hexametilentetramină, $(CH_2)_6N_4$. Acest amestec produce o suspensie fină formată din particule cu diferite dimensiuni, similar ca distribuție granulometrică cu cel care se

[94] *Ionul comun* introdus în soluție, datorită constanței produsului de solubilitate, micşorează în general solubilitatea unui precipitat.

formează în apele naturale tulburi. Amestecul este preparat sub formă de soluție stoc egală cu 4000 FTU (formazine turbidity units - unități de turbiditate - formazină), unități cunoscute şi sub denumirea de NTU - unități de turbiditate nefelometrice [95]. Rețeta de preparare este următoarea:

÷ Se dizolvă 10.0g hexametilentetramină ($C_6H_{12}N_4$) în apă şi se diluează la 100ml (constituind soluția A).

÷ Se dizolvă, separat, 1.0g sulfat de hidrazină ($N_2H_6SO_4$) în apă şi se diluează tot la 100ml.

÷ *ATENȚIE: Sulfatul de hidrazină este otrăvitor şi poate fi cancerigen.*

÷ Se amestecă 5ml soluție A cu 5ml soluție B.

÷ Se lasă să stea 24 ore la 25±3°. Apoi se diluează la 100ml cu apă. Turbiditatea acestei soluții în unități de atenuare cu formazină (FAU) sau unități nefelometrice de formazină (FNU) este 400.

Această soluție se poate folosi aproximativ 4 săptămâni, perioadă în care este stabilă. Condiția este să se păstreze la 25±3° la întuneric.

Pentru utilizare, soluția stoc este diluată la nivelul cerut, de la o valoare foarte scăzută de 1-10NTU, până la sute sau chiar mai mari.

Absorbția şi difuzia luminii în apă depind foarte mult de distribuția mărimii, formei şi culorii particulelor în suspensie, care variază de la alb cretă la negru de noroi şi este imposibil să calibrezi un instrument pentru a cuprinde toate aceste limite. Într-adevăr, una din problemele care apar la folosirea formazinei este că aceasta este un precipitat alb şi poate exista un raport de 5:1, sau chiar mai mare între proprietățile de reflexie şi difuzie a formazinei şi ale particulelor închise naturale. Pentru a avea certitudinea măsurării corecte a turbidității, este necesar să se calibreze senzorii într-un domeniu al suspensiilor care se potriveşte cu apa de controlat, pentru a se evita erorile grosolane.

Nivelele de turbiditate joasă, măsurate nefelometric prin intermediul difuziei la 90°, acoperă domeniul de la 0 la 100FTU (NTU). Valori mai mari, măsurate prin absorbția directă, corespund domeniului de la 100 la 500FTU. Peste 500FTU, în mod natural, se consideră sedimente în suspensie şi se exprimă în ppm sau $mg \cdot L^{-1}$, valori cuprinse între 5-5000ppm pentru noroi şi 100 la 100000ppm pentru nisip.

[95] Unitățile FNU sau, mai recent NTU, reprezintă *unități standardizate*, introduse de USEPA şi recunoscute de standardele europene ISO, mai concret ISO-70227

Întrebări de verificare

1. Pe ce fenomen general se bazează atât nefelometria cât şi turbidimetria?
2. Ce mărime se determină în cazul nefelometriei şi ce mărime în cazul turbidimetriei?
3. Care trebuie să fie relația între diametrul particulelor şi lungimea de undă în cazul metodei nefelometrice?
4. Când este recomandată examinarea la unghiuri apropiate de 180° ?
5. În ce constă titrarea turbidimetrică?
6. Ce parametru se măsoară în cinetica turbidimetrică?
7. Cu ce reactiv se poate determina sulfatul din ape, tubidimetric?
8. Ce este formazina şi la ce se foloseşte?
9. Cu ce ecuație se aseamănă ecuația utilizată în turbidimetrie pentru analiza cantitativă?

Toată fizica este fie imposibilă fie trivială; este imposibilă până o înțelegi, apoi, devine trivială
Ernest Rutherford (1871- 1937)

Refractometria şi polarimetria

Refractometria

Indicele de refracție notat n la o temperatură dată şi lucrând cu lumină de lungime de undă, λ, fixată este o constantă fizică importantă care caracterizează cu precizie o substanță chimică deoarece mici cantități de impurități modifică valoarea acestui indice. Măsurătorile de indici de refracție se pot realiza rapid şi cu cantități mici de substanță, aparatura fiind relativ ieftină. Se ştie din fizică ce este refracția şi indicele de refracție. Pe figura alaturată (vezi fig. 1) am reprezentat trecerea energiei radiante dintr-un mediu 1 într-un mediu 2. Fenomenul de schimbare a direcției de propagare caracterizată prin unghiul ***i*****,** respectiv ***r*****,** se numeşte *refracție*.

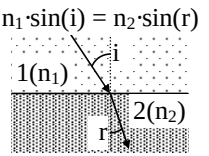


Fig. 1. Fenomenul refracției şi legea după care se petrece

Conform legilor refracției empirice *sin i/sin r = n* reprezintă indicele de refracție al mediului 2 în raport cu primul şi este egal cu *raportul vitezelor de propagare în cele două medii* (în mediul mai dens cu viteză mai mică). Dacă r = 90° raza se propagă în mediul 2 perpendicular pe interfața celor două medii şi se poate scrie: $n_{2,1}$ = sin i. Această valoare i este denumită *unghi limită* sau *unghi critic*. Dacă r > 90° asistăm la o *reflexie totală* adică raza nu trece în mediul 2.

Dacă mediul 1 este chiar vidul, n *reprezintă indicele de refracție absolut* şi:

$$n = n_1/n_2 \quad (1)$$

În practica de laborator se determină indicele de refracție față de aer. Indicele de refracție al unei substanțe față de vid se numeşte *indice de refracție absolut*. Acesta se obține din cel măsurat în aer prin înmulțire cu 1.00027. Indicele de refracție variază deci cu densitatea, temperatura şi presiunea mediului.

Pentru a elimina influența temperaturii şi presiunii, deci a densității, d s-a introdus o nouă constantă de material *refracția specifică:*

$$r = (n-1)/d \text{ (Gladstone şi Dale)} \quad (2)$$

O relație mai adecvată pentru aceeași constantă de material a fost dedusă din teoria electromagnetică a luminii (Maxwell) având expresia:

$$r = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2) \cdot d} \qquad (3)$$

numită tot *refracție specifică*. Produsul dintre aceasta și masa molară a primit denumirea de *refracția molară* - tot o constantă de material - fiind utilizată astăzi în caracterizarea fizico-chimică a substanțelor chimice (Lorenz-Lorenz):

$$R = \frac{(n^2 - 1) \cdot M}{(n^2 + 2) \cdot d} \qquad (4)$$

Aceasta este o funcție liniară de compoziția materialului (exprimată prin fracții molare) și, de exemplu, pentru o soluție conținând n substanțe, se poate exprima: $R = x_1R_1 + x_2R_2 + \ldots + x_nR_n$. Pentru molecule organice există o importanță deosebită, diferitele porțiuni structurale ale aceleiași molecule permițînd, pentru o anumită clasă de substanțe, obținerea prin calcul din refracțiile atomice, a refracției molare. De asemenea pentru materiale sau soluții refracția molară poate fi suma produselor fracțiilor molare cu refracțiilor molare ale componenților materialelor (soluțiilor).

Indicele de refracție se determină cu refractometre și interferometre. Interferometrele sunt însă mult mai precise decât refractometrele. Astfel în timp ce refractometrele dau indicii de refracție cu erori de $\pm 10^{-5}$ interferometrele măsoară cu erori de $\pm 10^{-8}$.

Metoda se aplică la determinarea gradului de puritate, pentru stabilirea compoziției sistemelor binare și ternare (de exemplu 3 solvenți organici) precum și la stabilirea unor structuri. Câțiva indici de refracție ai unor lichide sunt prezentați în tabelul 1.

Tabelul 13.1. Câteva exemple de indici de refracție

Substanța	T °C	n_D
Hexan	20	1.37486
Ciclohexan	20	1.42623
Benzen	20	1.50110
Nitrobenzen	20	1.55319

Pentru amestecuri binare [96] de lichide, curbele de etalonare servesc frecvent la analize cantitative.

Refracția fiind un fenomen legat de polarizabilitate, între indicele de refracție *n* și constanta dielectrică, ε, exista o relație simplă : $n^2 = \varepsilon$ importantă în determinările structurale.

[96] Amestecuri formate doar din două substanțe diferite, fiecare având un indice de refracție *n* specific.

Determinările indicilor de refracție se fac la linii de lungimi de undă bine determinate notate uneori în literature de specialitate: D, d, F sau c fiecare literă reprezentând o linie a unui element (*linii Fraunhofer*). De exemplu D este linia galbenă a sodiului cu λ = 589.3nm.

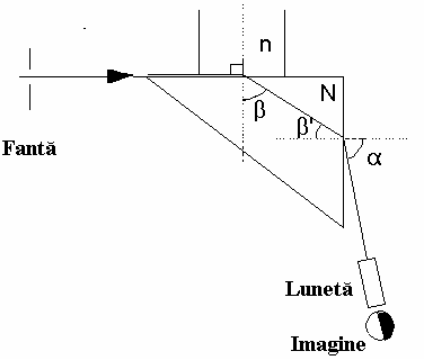


Fig. 2. Schema refractometrului Pulffrich

În fig. 2. se dă principiul de funcționare al celui mai folosit refractometru: *refractometrul Pulfrich*. În acesta (vezi fig. 2), se poate scrie relația: sin 90/sin β = N/n, unde N este indicele de refracție al sticlei, *n* - indicele de refracție al lichidului şi β - unghiul de refracție la un unghi de incidență de 90. Se observă că n = N sin β. Cum β + β' = 90° avem, ținând cont de valoarea α din fig. 2:

$$n = N\sqrt{1-\sin^2\beta'} = \sqrt{N^2-\sin^2\alpha} \qquad (5)$$

relație cu care se poate calcula indicele de refracție măsurat cu acest instrument.

Un alt refractometru foarte răspândit este refractometrul Abbe.

Polarimetria

Studiul fenomenelor optice în lumină polarizată poartă numele de polarimetrie. Practic se determină *rotația planului luminii polarizate în plan*, ceea ce se numeşte *unghi de rotație*. Unele substanțe *optic active* au proprietatea de a roti sau modifica planul de polarizare a luminii la trecerea luminii prin acestea. De exemplu în fig. 3c s-a ilustrat rotația cu un unghi α a planului unei raze ce vine spre noi dinspre planul hîrtiei - fig. 3b - comparativ cu o rază de lumină nepolarizată - fig. 3a.

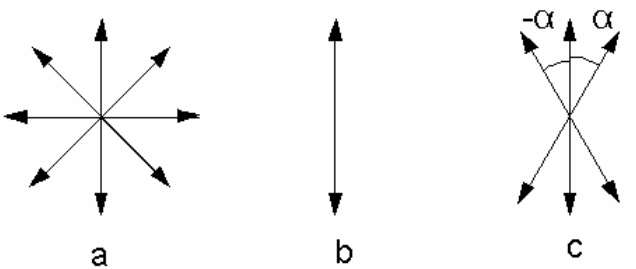


Fig. 3. Semnificația unghiului de rotație:
a - rază de lumină nepolarizată, b - rază polarizată, c - rotația optică cu unghiurile α şi -α

Activitatea optică a substanțelor cristaline este strâns legată de structura lor cristalină. Alteori la baza rotației stau *asimetriile moleculare*. Astfel, prin topire sau dizolvare dispărând structura dispare şi activitatea optică a substanțelor cristaline. La alte substanțe activitatea optică este legată de structura lor moleculară (chirală) şi la acestea activitatea se păstrează şi în soluție (de exemplu la zaharoză). Dacă rotația are loc în sensul acelor de ceasornic substanța o numim *dextrogiră* iar *unghiul de rotație se consideră pozitiv*. La rotația în sens opus denumirea substanței este de substanță *levogiră* iar *unghiul se consideră negativ*. În afară de natura substanței unghiul de rotație depinde şi de lungimea de undă a radiației, lungimea parcursului optic, de concentrație şi temperatură. În cazuri excepționale variază şi cu timpul, caz în care vorbim de *mutarotație*. Pentru face comparabile măsurătorile de rotație pentru diferite substanțe se fac raporturi ale unghiului măsurat la lungimea drumului optic, la densitatea soluției şi se fac referiri la o concentrație convențională de 1g per ml solvent. Rotația se numeşte în acest caz *specifică*, se notează cu $[\alpha]_\lambda^t$ şi are relația de definiție:

$$[\alpha]_\lambda^t = \alpha/(l \cdot d) \qquad (6)$$

unde α este unghiul de rotație măsurat, λ - lungimea de undă, l - lungimea celulei, d - densitatea soluției.

De exemplu, la o concentrație de Cg/100ml solvent expresia rotației specifice devine:

$$[\alpha]_\lambda^t = 100 \cdot \alpha/(l \cdot C \cdot d) \qquad (7)$$

Aceasta este o constantă caracteristică a lichidelor şi solidelor pure aflate în soluție. Valoarea α, pentru o soluție (material) optic activ, este legată de concentrație printr-o ecuație de forma:

$$\alpha = a + b \cdot C + c \cdot C^2 \qquad (8)$$

unde a, b, c sunt constante empirice. Aceasta face posibilă analiza cantitativă a unui component sau amestec de componente optic active.

Determinarea unghiului de rotație se face cu ajutorul polarimetrelor (de exemplu de tip Mitscherlich) a căror reprezentare schematică este prezentată în fig. 4.

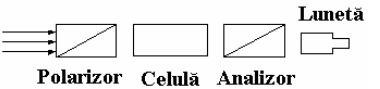


Fig. 4. Componentele unui polarimetru

Polarimetria se utilizează ca mijloc de analiză cantitativă a substanțelor optic active, zahăr, uleiuri eterice, dar şi pentru studii în domenii ca acoperiri metalice, coroziune, metalografie, mineralogie etc. Unele substanțe neoptic active reacționând cu parteneri optic activi, pot fi analizați indirect din consumul ultimilor.

Elipsometria

Se bazează pe proprietatea filmelor foarte subțiri, metalice, de a schimba starea de polarizare a luminii reflectate sub unghiuri mici (<90°) dintr-o lumină polarizată în plan într-una polarizată eliptic. Elipsometria determină polarizarea eliptică provocată de filmul subțire. Acest studiu se efectuează în timp, pe parcursul desfăşurării procesului de electroliză, coroziune etc.

Întrebări de verificare

1. Indicele de refracție se măsoară în lumină albă sau în lumină monocromatică?
2. La ce unghi de incidență se petrece reflexia totală?
3. Care sunt cele mai cunoscute refractometre?
4. Cum se numeşte indicele de refracție între un mediu dat şi vid? Prin ce se deosebeşte față de cel determinat în aer?
5. Ce este refracția molară şi la ce serveşte aceasta? Ce proprietate are refracția molară la soluții?
6. Ce relație există între indicele de refracție n şi constanta dielectrică a materialului ε?
7. Cu ce aparate se poate determina indicele de refracție? Dar rotația specifică?
8. Ce măsoară elipsometria?
9. Cum se calculează rotația specifică pentru o soluție, după ce se măsoară experimental unghiul de rotație α?

Nemții, şi nu numai ei, au darul de a face ştiințele inaccesibile
Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832)

Spectrometria de fluorescență X (RXF)

Principiul metodei

Această metodă este utilizată pe scară largă pentru determinarea calitativa şi cantitativă a compoziției chimice elementare a unei probe, mai ales pentru substanțe anorganice (minerale, ceramice, metale, soluri etc.) - în special în industrie. Tehnica se deosebește fundamental de difracția cu raze X. Aceasta din urmă se bazează pe faptul că lungimea de unda a radiației X (sau raze Röntgen [97]) este de acelaşi ordin de mărime cu distanțele dintre nodurile rețelelor cristaline (atomice, metalice, ionice sau moleculare) şi, ca o consecință a difracției şi interferenței, apar maxime ale intensității razelor emergente, la anumite unghiuri.

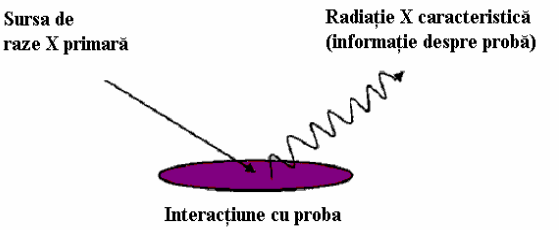


Fig. 1. Schema modului de producere a semnalului (razelor X caracteristice) în analiza XRF

În *fluorescența de raze X* (XRF [98]) lucrurile se petrec altfel. Anume, au loc succesiv următoarele procese:

1. Electronii interiori ai atomilor probei sunt expulzați datorită ciocnirilor cu fotonii X ai sursei de raze X primare (fig. 1 şi 4).
2. Electronii din straturile exterioare ocupă locurile rămase vacante de pe straturile inferioare (K, L, M).
3. În urma tranzițiilor care au loc, se eliberează cuante de energie din domeniul razelor X care părăsesc proba în toate direcțiile.

Energia sursei de raze X este cuprinsă între 5 şi 100keV. *Razele X primare*, cum se numesc radiațiile care provin de la sursă (adesea un tub de raze X), sunt dirijate spre proba supusă analizei. *Radiațiile X caracteristice* - specifice elementelor probei şi reemise de către

[97] Denumirea de *radiație Röntgen* se folosește mult în literatura internațională în onoarea fizicianului german K. Röntgen - descoperitorul acestor raze.
[98] XRF este prescurtarea din l. engl. a denumirii internaționale: X-Ray Fluorimetry.

aceasta - părăsesc eşantionul, conținând informații care permit stabilirea compoziției chimice a materialului [99] (solid sau soluție).

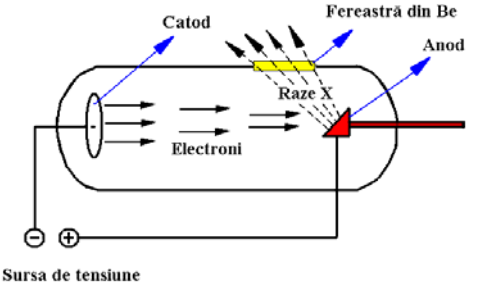


Fig. 2. Schița de principiu a funcționării tubului de raze X (tub Röntgen)

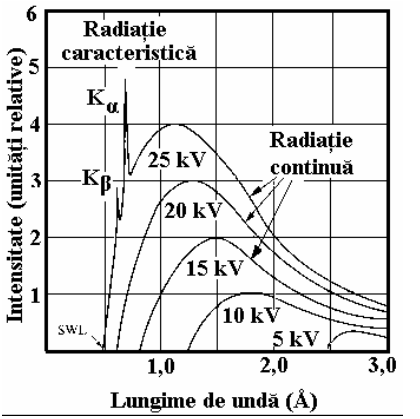


Fig. 3. Spectrul tipic emis de un tub de raze X cu anticatod din molibden

Tubul de raze X, funcționează pe baza accelerării într-un câmp de înaltă tensiune (şi totodată în vid) a electronilor emişi de către catod. Aceştia izbind *anticatodul* (de multe ori anodul tubului), generează raze X specifice anticatodului, în interiorul acestuia. În funcție de natura probei, se lucrează cu un anticatod potrivit - confecționat dintr-un metal care să nu fie conținut în probă (Cu, Fe, Co, Ni, Cr, Mo, Ag, Rh etc.). După cum am amintit, razele X primare sunt emanate în toate direcțiile însă părăsesc tubul doar acelea care vin spre direcția ferestrei, confecționate din beriliu - un element cu caracter metalic, suficient de rigid, având un număr de ordine mic şi de aceea la o grosime redusă este practic transparent la raze X. Schița de principiu a unui astfel de tub este reprezentat schematic în fig. 2.

Radiațiile X care părăsesc tubul sunt de două tipuri. O radiație de fond - cu spectru larg, continuu - peste care se găseşte suprapus un spectru caracteristic metalului anticatodului. Căzând asupra probei de analizat, fotonii X provoacă la rândul lor apariția altor radiații caracteristice, de astă dată ale probei supuse analizei. Din acest motiv, reamintim că *nu se folosesc tuburi cu anticatodul compus dintr-un metal care se găseşte şi în proba de analizat.* De exemplu radiația care părăsește un tub cu anticatod din Mo este prezentată în fig. 3 la diferite valori ale energiei acesteia. Se remarcă lărgimea considerabilă a domeniului de lungimi de undă emise, comparativ cu domeniul celor caracteristice.

Mecanismul apariției radiației caracteristice este prezentat ceva mai în detaliu în fig. 4. Astfel, în urma coliziunii mecanice dintre fotonii X ai sursei primare cu electronii de pe

[99] Nu este neapărat necesar să fie fotoni X. Se pot obține spectre de fluorescență X şi cu surse de electroni (*tunuri electronice*), surse de radiații α sau chiar de radiații γ. Toate au un principiu similar.

straturile inferioare, mai săraci în energie, aceştia sunt expulzați. Locurile vacante rămase după plecarea electronilor (redate cu alb pe fig. 4), sunt ocupate de electroni aflați pe straturile superioare - mai bogați în energie. Diferența de energie este emisă sub forma unei cuante care, pentru majoritatea atomilor din sistemul periodic, se găseşte în domeniul razelor X. Doar elementele uşoare Z = 1..5 nu au aceste tranziții în domeniul razelor X. În plus, spectrul de fluorescență X, cum se mai numeşte ansamblul liniilor produse în maniera amintită, nu depinde decât în foarte mică măsură de natura combinației chimice în care se găseşte atomul în proba de analizat.

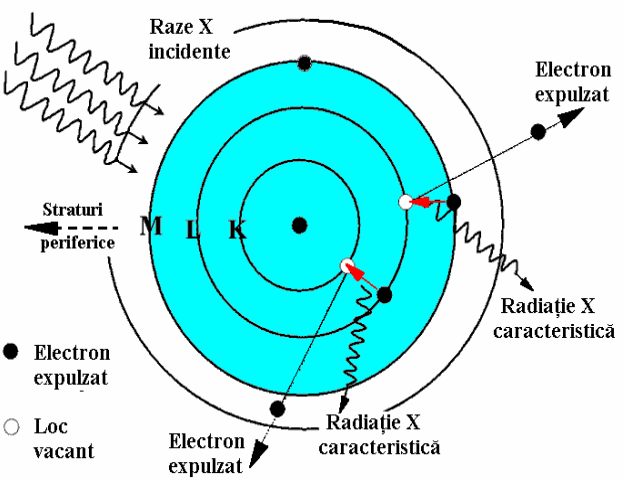


Fig. 4. Tranzițiile care provoacă principalele linii utilizate în analiza prin FRX

Razele X primare care părăsesc tubul de raze X, sunt dirijate apoi asupra probei de analizat. Aceasta, va emite aşa-numita *radiație de fluorescență* - caracteristică elementelor probei, fiind însoțită şi de o *radiație continuă* care are un spectru larg datorită interacțiunii electronilor cu câmpul electric al nucleului.

Dacă din punct de vedere calitativ, spectrul de raze X al probei este simplu (are 2 sau 3 linii principale) şi în acesta foarte rar se suprapun două linii de la doi atomi diferiți, *analiza cantitativă*, care utilizează valoarea intensității radiațiilor X caracteristice, întâmpină câteva dificultăți majore. În primul rând, excitarea atomilor din probă are loc doar într-un strat subțire de la suprafața probei, a cărui grosime depinde de energia sursei (variind între câteva sute de microni la 1cm). De aceea orice neuniformități ale suprafeței pot influența rezultatul. Apoi, unii atomi absorb doar anumite radiații şi acest lucru determină o influență a compoziției chimice a probei asupra rezultatelor valorii intensității măsurate. *Efectele de matrice* - denumire dată totalității efectelor provocate de către elementele însoțitoare asupra rezultatului analitic, pentru un element dat - fac necesare, în cazul analizelor cantitative,

precauții deosebite în pregătirea probelor. Spectrometrele cu dispersie după lungimea de undă lucrează cel mai des în vid şi mai rar în atmosfera formată din amestecuri aer - metan, tocmai pentru a elimina efectele atmosferei. Există două posibilități de analiză a semnalelor (măsurate ca intensități de radiații X):

÷ *cu dispersie după lungimea de undă* şi

÷ *cu dispersie după energie*.

Fiecare are avantaje şi dezavantaje proprii. În prima variantă, lungimile de undă se analizează pe baza dispersiei realizate cu un dispozitiv optic - bazat pe difracție şi interferență. A doua grupă de metode selectează liniile analitice după energia acestora. Ceea ce este comun tuturor este durata mică necesară analizei la elementele majore şi de asemenea la elementele grele. La cele uşoare, mai ales la concentrații joase, durata se poate mări considerabil comparativ cu precedentele. La analizoarele multicanal, o analiză completă, fără prepararea probei, durează 1-2min.

Aparatura pentru dispersia după lungimea de undă

Principiul acestei variante tehnice este ilustrat în fig. 5. Se observă părțile principale ale instrumentației: sursa de excitare (1) - de fapt tubul de raze X primare - proba (2), pregătită cu o suprafață plana şi de compoziție cât mai uniformă, sistemul de analiză a lungimii de undă și a intensității acesteia (3) care include și detectorul (4).

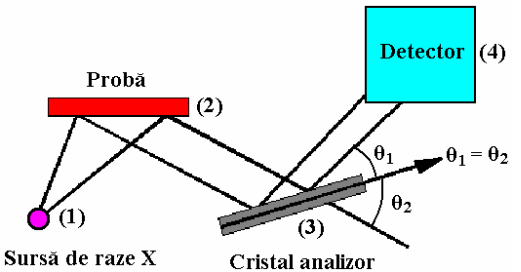


Fig. 5. Schița de principiu a instrumentului pentru analize chimice prin XRF (nu sunt reprezentate colimatoarele Soller)

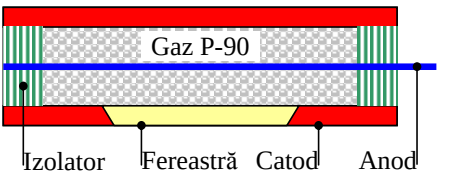


Fig. 6 Schița de principiu a contorului proporțional

Sistemul de analiză a lungimii de undă se compune din cristalul analizor (3) care se deplasează sincron cu detectorul (4), împreună cu colimatoarele și fanta, situată împreună cu cristalul (mai recent curbat - secțiunea sa făcând parte dintr-un cerc Rowland). Acest ansamblu are rolul de a separa linia analitică - caracteristică elementului de analizat. Dispozitivul poartă denumirea de *goniometru*.

D*etectorul* măsoară fotonii X plecați din probă în urma tranzițiilor amintite şi care sunt numărați de un numărător de impulsuri, iar acest număr este afișat digital sau introdus într-un sistem de procesare a datelor sub denumirea de intensitate, I. Fotonii razelor X (precum şi ai altor particule radiante bogate în energie) pot fi numărați folosind următoarele tipuri de detectori:

÷ Detectori cu gaze sau contoarele proporționale care înregistrează un puls de curent rezultat din colectarea perechilor ion-electron,

÷ Detectorii cu semiconductori care întregistrează un puls de curent rezultat din formarea perechilor electron - gol,

÷ Detectorul cu scintilații care numără pulsurile luminoase create atunci când o radiație X trece printr-un material fosforescent.

Cel mai utilizat în spectrometrele cu dispersie după lungimea de undă - *contorul proporțional* (fig. 6) - este confecționat dintr-un tub umplut cu gaz P90 (90% Ar, 10% CH_4) având doi electrozi-conductori: un fir central şi un tub din tablă, metalic. Fotonul X provoacă ionizarea gazului iar electronul este accelerat de câmpul intens (500-700V) ce există între anod (+) şi catod (-). În deplasarea sa către polul opus, primul electron format provoacă

ionizarea altor particule gazoase rezultând electroni secundari şi ioni. Acest fenomen, numit *descărcare în avalanşă* măreşte mult semnalul electric al pulsului de curent, care este proporţional cu energia razelor X respectiv invers proporţional cu lungimea de undă a acestora.

Atât razele emise de către tubul de raze X cât şi cele emise de către probă sunt trecute prin nişte colimatoare, alcătuite dintr-un mănunchi de foi subţiri de plumb (denumite colimatoare Soller), pentru a forma un fascicol de raze X paralele. Fascicolul de raze paralele cade sub un unghi θ pe cristalul analizor, unghi care poate varia pe parcursul realizării analizei. Pentru orice unghi de incidenţă, cristalul analizor va *reflecta* intens [100] doar acele raze care respectă *ecuaţia lui Bragg*:

$$n\lambda = 2 \cdot d \cdot \sin(\theta) \qquad (1)$$

unde n este un număr întreg din domeniu 1..n, λ - lungimea de undă a radiaţiei X incidente, d - constanta reţelei (fig. 7) iar θ unghiul de incidenţă al radiaţiei X care vine de la probă (pe fig. 7, $\theta = \theta_1 = \theta_2$). Prin modificarea orientării cristalului, al cărui unghi θ se cunoaşte cu ajutorul goniometrului (v. tabelul 1) se poate sesiza prezenţa unui anumit element deoarece *la anumite unghiuri (fixe) caracteristice doar pentru un anumit element, intensitatea radiaţiei X, notată I, măsurată de către detector, va prezenta picuri accentuate* (vezi anexa 1).

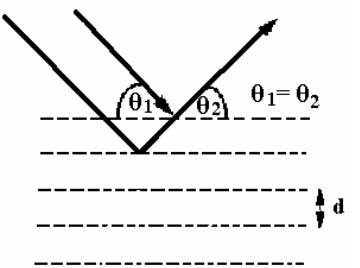


Fig. 7. Reflexia razelor X pe planele formate de către atomii dintr-un cristal

Spectrofotometrele de raze X cu dispersie după lungime de undă pot fi construite în două variante diferite:

÷ *Analizoarele secvenţiale* la care întreg sistemul cristal-detector se roteşte sincron parcurgând împreună toate unghiurile posibile. Astfel, semnalul va fi o curbă cu mai multe picuri în coordonate: 2θ - I. Aceste analizoare sunt preferate în cercetare pentru că pot analiza numeroase elemente. Prezintă uneori dezavantajul că durata analizelor de acest fel este uneori prea mare.

÷ *Analizoarele multicanal* sunt prevăzute prin construcţie cu mai mulţi detectori şi măsoară

[100] Este vorba de o difracţie, în toate direcţiile şi o interferenţă care poate fi constructivă, la unghiul care respectă ecuaţia lui Bragg, sau distructivă la celelalte

simultan radiația de fluorescență a probei, fiecare dintre perechile cristal analizor - detector fiind situate la un anumit unghi, θ, dinainte reglat, caracteristic doar pentru un anumit element. Ultima variantă este preferată în analizoarele industriale unde probele au compoziții apropiate, iar analizele trebuie să fie rapide. Dezavantajul constă în faptul că în cazul unor probe cu compoziție neașteptată, mai ales dacă conțin alte elemente decât probele curente, se obțin rezultate complet eronate.

Tabelul 1. Câteva cristale analizoare utilizate curent în XRF. Cu cât lungimea de undă a elementului de analizat este mai mare cu atât cristalul ales trebuie să aibă o distanță reticulară mai mare

Cristal	Planul expus razelor X (indicii Miller*)	Domeniu de utilizare (nm)	d (nm)
Topaz	303	0.015 - 0.15	0.1356
Fluorură de litiu	200	0.025 - 0.272	0.201
Siliciu	111	0.055 - 0.598	0.314
Acid oxalic	001	0.05 - 0.75	0.589
Mică	002	N/A	0.996
Sterat de plumb	001	6 -15	0.996

* *Indicii Miller* constituie cifre care definesc orientarea diferitelor fețe plane ale unui cristal, în spațiu (http://geology.csupomona.edu/drjessey/class/gsc215/minnotes5.htm sau http://www.gly.uga.edu/schroeder/geol6550/millerindices.html).

Instrumentele de analiză chimică cu dispersie după lungimea de undă sunt scumpe și constituie investiții pe termen lung ale laboratoarelor analitice.

Analizoarele cu dispersie după energie

În această tehnică razele X primare cad pe suprafața probei, analog cu *tehnica dispersiei după lungimea de undă*, excitând mai multe linii spectrale caracteristice elementelor chimice din probă, conform aceloraşi legi fizice.

Sursa de raze X poate fi însă diferită. Astfel, se pot utiliza direct tuburi de raze X obişnuite, cu spectru larg, sau se pot folosi pe lângă acestea filtre (de obicei foi subțiri metalice) sau ținte secundare (tot metalice) pentru a se obține o radiație incidentă care poate fi denumită radiație *semi-monocromatică*. În cazul celor cu țintă secundară (EDXRF) geometria preferată este cea din fig. 8. În cazul particular al instrumentelor portabile de teren, în special al celor utilizate pentru detecția în serie a aceloraşi elemente, se mai folosesc, în calitate de surse, izotopi γ radioactivi. De asemenea, se mai poate utiliza radiația unor sincrotroane.

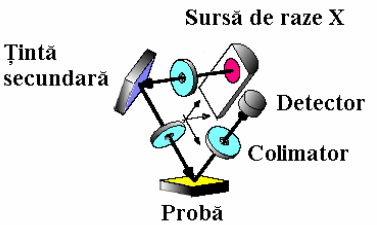


Fig. 8. Geometria preferată în EDXRF cu țintă secundară. Se remarcă faptul că unghiurile dintre raze sunt de 90°

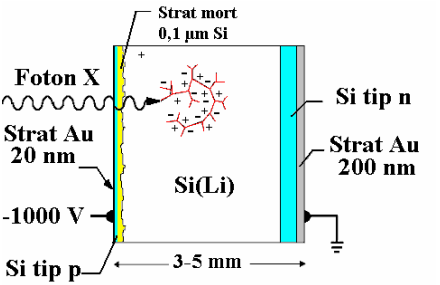


Fig. 9. Modul de funcționare a detectorilor de Si dopați cu Li

Detectorii folosiți cel mai frecvent sunt *detectorii pe bază de semiconductori Si(Li* adică formați din siliciu dopat cu litiu. Aceştia înregistrează un *semnal având înălțimea proporțională cu energia fotonului incident***,** în urma unei descărcări în avalanşă la care participă electronul şi golul apărut (v. fig. 9).

La pătrunderea unui foton X în interiorul unui cristal, acesta provoacă, în urma coliziunilor cu atomii componenți ai rețelei, eliberarea unor fotoelectroni cu energie ridicată care îşi pierd, prin ciocniri, energia în urma unor interacțiuni multiple. Aceste interacțiuni promovează electroni din banda de valență în banda de conducție, lăsând în urma acestor promovări goluri în banda de valență. Perechile electron - gol sunt colectate de tensiunea înaltă (-1000V), ceea ce duce la apariția unui puls de curent cu totul analog celui din contorul proporțional. Colectarea sarcinilor este însă mai eficientă decât într-un gaz.

Un detector de acest tip se realizează din siliciu de înaltă puritate în care, prin scufundare într-o sare de Li topită, sub un câmp electric, se introduc în rețea atomi de Li, la temperaturi de 350-450°C. Rolul litiului - un dopant de tip n - este acela de a evita descărcările în avalanşă fără prezența fotonilor X, descărcări posibile datorită înaltei tensiuni.

Acești detectori operează la temperatură joasă (77 K) folosindu-se un criostat cu N_2 lichid. Modificându-se tensiunea de alimentare a detectorului, în trepte egale, se schimbă și valoarea energiei medii înregistrate. Înălțimile pulsurilor sunt separate electronic folosind un analizor de pulsuri. Se obține astfel un grafic intensitate în funcție de energie cu totul similar celui din metoda precedentă. Un exemplu de rezultat analitic este prezentat în fig. 10.

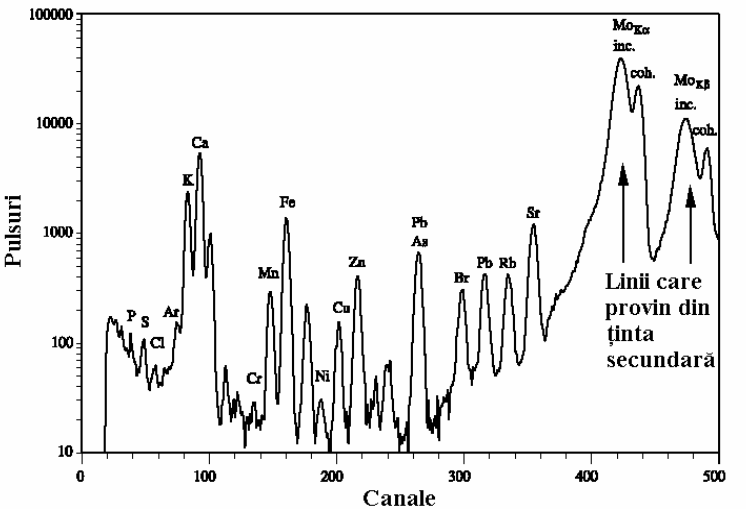


Fig. 10. Spectrul de fluorescență X a unei probe etalon (NBS nr. 1571) folosind un analizor cu geometria din fig. 7 și țintă secundară de Mo

Pentru scopuri speciale se mai utilizează și alți detectori cum ar fi cei pe bază de semiconductori cu Ge(Li), CdZnTe sau HgI_2. Dacă pentru analizele cantitative se pot utiliza probele, practic fără nici o prelucrare, în cazul analizelor cantitative problemele sunt aceleași ca la metoda dispersiei după lungimea de undă, fiind necesare probe perfect plane, omogene și etaloane din aceleași materiale ca și cele supuse analizei.

Avantajele metodei sunt: simplitatea instrumentației (de exemplu nu există părți în mișcare), iar analiza cantitativă durează circa 30 secunde. În locul tubului de raze X de energie înaltă, de dimensiuni mari, scump și mare consumator de energie se folosesc tuburi de raze X de putere mică, radioizotopi sau raze ionice. Analiza calitativă este foarte sensibilă putând merge, atât pentru lichide cât și pentru solide, până la ppm pentru toate elementele de la B la Al.

XRF cu reflexie totală are la bază exact același principiu ca și analiza XRF cu dispersie după energie convențională, dar utilizează un aranjament geometric specific pentru a maximiza raportul semnal/zgomot. Astfel, când radiația trece dintr-un mediu cu o densitate mai mică într-unul cu densitate mai ridicată, radiația suferă o reflexie totală dacă unghiul de incidență este situat sub un anumit unghi critic (câțiva miliradiani în cazul razelor X). Razele

incidente, pătrund în suprafața reflectantă extrem de puțin. Iluminând proba cu o rază care este reflectată total, absorbția acesteia de către suport este mult redusă. Acest lucru reduce zgomotul de fond. De asemenea, realizând stratul de probă foarte subțire se reduce şi mai mult zgomotul de fond. Astfel, o probă formată dintr-o micro-picătură de soluție (între 10 și 100µl) este plasată pe un suport din silicagel. Prin evaporarea solventului, rezultă un strat extrem de subțire de substanță - de câțiva nanometri. Apoi se face măsurătoarea în maniera obișnuită a dispersiei după energie.

Avantajele sunt următoarele: nu există practic efect de matrice, limita de detecție coboară foarte mult pentru elemente cu număr de ordine, Z, mai mare de 13 (Al), se pot analiza simultan mai multe elemente, se obține un raport semnal/zgomot bun, analizele cantitative se pot realiza cu un singur standard intern, domeniul dinamic liniar este excelent, iar conținutul minim detectabil atinge ordinul ppb [101].

Microsonda cu raze X, denumită prescurtat şi µ-XRF, este echivalentul microscopic al analizei de fluorescență X cu dispersie după energie convențională. În această tehnică, analiza are la bază localizarea excitării probei pe o suprafață de dimensiuni micronice (sau chiar de dimensiuni mai mari), dar se poate totodată analiza compoziția integrală a unui obiect de dimensiuni microscopice (o incluziune sau o impuritate într-un material, o granulă de poluant, o celulă etc.) Pentru a se obține imagini ale suprafețelor probei, acesteia i se poate aplica o mișcare de translație astfel încât zona excitată, micronică, să baleieze o suprafață mai mare de pe probă. Se obțin asfel *imagini* sau *hărți* ale compoziției chimice de pe diferitele zone ale suprafeței probei.

Dezvoltarea acestei metode are câteva avantaje:

÷ Fotonii de energii înalte (X sau γ) pot penetra mai adânc suprafața, comparativ cu alte radiații - cele electronice sau ionice - dând informații pertinente privind compoziția probei;

÷ Imaginile se pot obține lucrând în aer, cu o preparare minimă a probei;

÷ Se pot analiza probe care nu sunt conductori;

÷ Construcția aparaturii este mult mai simplă decât în cazul microsondei electronice (unde sunt necesare lentile).

[101] 1 ppb = o parte per miliard (10⁹ părți). Din l. engl. **p**art **p**er **b**illion.

Aparate de analiză XRF care utilizează filtre

O a treia categorie de instrumente - utile aproape exclusiv pentru controlul proceselor industriale, în ceea ce privește concentrația unui singur element în materialul de analizat, din cadrul unei linii de fabricație continuă - folosește în locul cristalului analizor și al goniometrului niște filtre pentru raze X. Tehnica amintită are avantajul că este ieftină calitatea rezultatelor fiind însă net inferioară celor precedente.

Metoda se bazează pe faptul că un element poate fi determinat măsurând o singură linie din spectrul său, cu condiția ca această linie să poată fi izolată din ansamblul de linii al spectrului probei, folosind o pereche de filtre. Acestea sunt de obicei discuri metalice, dar se pot utiliza pentru realizarea filtrului orice compuși potriviți scopului. Plecând de la acest principiu, metoda utilizează cele două filtre pentru a se realiza separarea liniei amintite care provine din proba supusă iradierii cu un tub de raze X primare. Se fac două măsurători, utilizând contoare de tip Geiger-Müller. Astfel, între probă și detector se intercalează două filtre:

(1) un *filtru de transmisie* cu rolul de a permite trecerea radiației caracteristice a elementului de analizat, dar nu și a celor cu lungimi de undă mai mari;

(2) un *filtru de absorbție* care este opac la radiații cu lungimi de undă mai mici decât cea a atomului de analizat.

Analiza chimică cantitativă

Pentru efectuarea analizei cantitative prin spectrometria de fluorescența a radiațiilor X, cea mai indicată metodă este dispersia după lungimea de undă. Și aici, trebuie realizată corelația intensităților măsurate cu compoziția chimică. Intensitatea radiației X, emisă de elementul excitat, este în funcție de concentrația acestuia în probă dar și de distribuția spectrală a radiației primare și de fluorescență ce părăsesc proba. În scopul de a diminua, elimina sau compensa devierea de la proporționalitate a radiațiilor de fluorescență, în funcție de concentrație, sunt cunoscute o serie de metode aplicate și în alte procedee de investigare a compoziției chimice și anume: compararea cu o curbă standard și trasarea curbei de calibrare; adăugarea unui standard intern - un element diferit de elementul de analizat dar ales potrivit; adăugarea unei cantități cunoscute din elementul de dozat,diluarea probei; analiza cantitativă prin calcul.

În continuare, se vor prezenta procedee de calcul aplicate la analiza prin fluorescența de raze X. Pentru determinarea concentrațiilor unor elemente în probe de compoziție necunoscută, este necesară trasarea curbelor de calibrare. Acestea sunt obținute dintr-un număr de probe standard, pentru care, concentrația, C, a elementului căutat este cunoscută. Se măsoară intensitatea, I, a probei standard, apoi pe baza unui program se trasează curba de calibrare liniară sau pătratică pentru perechi de valori ale intensității și concentrației, folosind metoda celor mai mici pătrate. Pentru un element oarecare, i, expresia de calcul este:

$$C_i = b_i + m_i I_i + m_{ii} I_i^2 \qquad (2)$$

unde: C_i este concentrația elementului i cunoscut în procente, I_i - intensitatea măsurată, b_i - fondul spectral, m_i - coeficient al termenului liniar, m_{ii} - coeficientul termenului pătratic care este egal cu zero în aproximația liniară.

Odată stabilite valorile lui b_i, m_i și m_{ii} ale curbei optime, pe baza etaloanelor, acestea se stochează în memoria calculatorului. Apoi, calculatorul poate fi comandat să determine concentrația elementului x din proba necunoscută pe baza valorii I_x - măsurate după introducerea eșantionului în analizor. Dacă în probele supuse analizelor există fluctuații mari ale concentrațiilor elementelor însoțitoare, trebuie să se țină cont de *efectul de matrice*. Acesta înseamnă să se ia în considerare efectul tuturor elementelor j (diferite de elementul i) care trebuie și ele analizate. Efectul de matrice constă în :

÷ absorbția radiației caracteristice a elementului i de către elementul j;

÷ excitația secundară a radiației caracteristice a elementului i de către radiațiile caracteristice ale elementului j;

÷ creșterea fondului radiației caracteristice, pentru un element i, datorită prezenței radiațiilor altor elemente j, care sunt reflectate aproximativ sub același unghi. Primele două efecte -

numite uzual, *interacțiuni* - sunt luate în considerare prin valoarea coeficientului m_i. Cel de al treilea efect, numit efect de suprapunere, este luat în considerare prin valoarea coeficientul de suprapunere, b_{ij}.

Efectul de matrice poate fi modelat matematic cu ajutorul *ecuației lui Lucas-Tooth şi Paine* (preferată până la apariția calculatoarelor moderne):

$$C_i = a_i + b_i I_i \left(1 + \sum_j k_{ij} I_j \right) \tag{3}$$

unde: C_i este concentrația cunoscută a elementului; i, b_{ij} sunt coeficienți explicați mai sus; iar I_i şi I_j sunt intensitățile măsurate pentru elementele i, respectiv j. În situația în care coeficienții sunt stabiliți pe baza unor măsurători efectuate pe un număr de probe standard, cunoscute precis prin analize chimice clasice sau prin cântărire, concentrațiile C_i pot fi calculate, într-o a doua etapă, cu ajutorul intensităților brute, I_i, respectiv I_j, determinate pe probele necunoscute. În ultimul timp prin pătrunderea calculatoarelor pe scară largă, ecuația preferată în analizoarele moderne a devenit *ecuația lui Sherman* (vezi anexa 2) care ia în considerare atât absorbția cât si intensificarea fluorescenței. O formă simplificată a ecuației lui Sherman este cea a lui LaChance şi Trail care foloseşte *coeficienții alfa* determinați experimental cu ajutorul unui set de probe etalon cunoscute:

$$C_i = R_i \left(1 + \sum_{i \neq j} \alpha_{ij} C_j \right) \tag{4}$$

unde R_i este intensitatea relativă (adică $R_i = I_i / I_0$ cu I_i valoarea măsurată pentru elementul i pe o probă şi I_0 valoarea măsurată pentru acelaşi element i, pur, C_i - concentrația elementului pentru care se face etalonarea iar C_j - concentrația tuturor elementelor, astfel încât:

$$\sum_j C_j = 1 \tag{5}$$

Prezenta metodă de analiză chimică este una din cele mai evoluate tehnici, folosită astăzi pe scară largă în industria metalurgică, industria cimentului, a silicaților, refractarelor sau în cea minieră (metaliferă şi nemetaliferă). În cazul elementelor carbon şi sulf se preferă totuşi o analiză separată din cauza erorilor ce pot apărea cu frecvență mai mare la cele două elemente dar şi a concentrației mici în care se găsesc acestea în aliajele metalice. Metoda preferată pentru ultimele este combustia în oxigen urmată de detecția prin spectrofotometrie în IR (la lungimi de undă diferite) sau absorbția consecutivă celor două elemente în soluții apoase urmată de determinarea celor două elemente prin titrări cu indicare instrumentală de exemplu prin metode coulometrice.

Aplicații

Marele succes al acestei metode de analiză provine din faptul ca eșantioanele nu se distrug în urma analizei iar probele, în special cele metalice sau pulberile, nu necesită un tratament chimic prealabil. Natura probelor analizate poate fi foarte diferită: metale, aliaje, materiale ceramice sticlă pulberi de orice tip. La început, metoda a fost preferată în industriile de mare tonaj (minieră, siderurgică, ciment, ceramică, sticlă etc.) dar în ultimul timp, datorită comodității și ridicării performanțelor instrumentației, aplicațiile s-au extins și în alte domenii (fotografie, semiconductori, industria petrolieră, geologie, papetărie, toxicologie sau controlul poluanților mediului). În fine, cuplajul acestei tehnici cu microscopia electronică a condus la microanaliza X (sau microsonda electronică) care permite pentru probe care, în mod ideal sunt conductori, să se realizeze o adevărată „cartografie" a compoziției chimice pe fiecare element macro- sau micro-structural din materialul studiat. Cu progresele recente în domeniul detectorilor, elementele analizate s-au extins astfel încât, cu anumite precauții, acestea pot fi determinate de la numărul atomic Z = 5 (B) la Z = 92 (U). În oricare din aplicații *analiza pe elemente se face indiferent de natura legăturilor chimice ale atomilor elementului respectiv* deoarece fenomenul de fluorescență se datorează electronilor interiori pe când legăturile chimice, electronilor exteriori ai atomilor. Pentru a se analiza și tipurile de structuri dintr-un material s-au introdus analizoarele de fluorescență X și, simultan, de difracție de raze X, care dau atât compoziția pe substanțe chimice (minerale, compuși intermetalici) cât și pe elemente.

Probele

Probele destinate analizelor cantitative trebuie să aibă suprafețele șlefuite (netede) și se fac de obicei în formă de discuri de diametrul 40 sau 20mm și o grosime mai mare de 2mm și de maximum 3cm. Aceste discuri pot fi din pulberi presate, de regulă cu un liant, ales în așa fel încât să nu elibereze produși gazoși în vid (H_3BO_3) sau discuri turnate în cazul topiturilor - aliaje metalice sau obținute din probe *dizolvate* prin topire cu fondanți (de ex. $Li_2B_4O_7$) și diverși aditivi în creuzete din platină și, în ultimul caz, turnate în forme din Pt cu 5%Au. Soluțiile se pot și ele analiza în cuve speciale din material plastic și acoperite cu o foiță din material plastic (Mylar) pentru a elimina efectele vidului. Pulberile se presează sub formă de discuri utilizând un liant anorganic (acid boric) sau organic (carboximetilceluloză), după o prealabilă omogenizare cu liantul respectiv. Liantul nu va depăși 10% din compoziția discului (pastilei). Mediul suport mai poate fi constituit și din hârtie de filtru, filtre cu pori micronici sau chiar membrane schimbătoare de ioni.

Întrebări de verificare

1. Ce particule interacționează cu proba de analizat în analiza chimică prin XRF?
2. Cum se numesc în XRF radiațiile care poartă informații privind compoziția chimică a probei?
3. Ce fel de particule sunt accelerate în câmpul electric al tubului de raze X pentru generarea acestora?
4. Care sunt mărimile fizice care intervin în ecuația lui Bragg?
5. Ce se înțelege prin radiația continuă emisă de tubul de raze X?
6. La ce servește cristalul analizor în dispersia după lungime de undă?
7. Ce fel de elemente chimice pot fi analizate prin XRF?
8. Dați câteva exemple de cristale analizoare!
9. Prin ce se deosebește instrumentația metodelor cu dispersie după lungimea de undă față de cele bazate pe dispersia după energie?
10. Ce provoacă un foton X într-un contor proporțional cu gaz?
11. Care este rolul litiului în semiconductorul dintr-un contor pe bază de Si(Li)?
12. Ce avantaje prezintă microsonda cu raze X?
13. La ce fel de determinări se pretează metoda de analiză XRF care utilizează filtre?
14. Ce se înțelege prin termenul *interacțiuni* în XRF?
15. Care metodă de calcul ține cont de interacțiunile element-matrice în analiza chimică cantitativă prin XRF?

Englezul e maestru în a folosi imediat ceea ce a descoperit; şi ne mai mirăm de ce ne-au luat-o inainte în toate
Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832)

Metode cromatografice - privire de ansamblu

Analiza chimică cromatografică este un domeniu mai recent al analizei instrumentale care include mai multe metode de separare şi totodată de analiză a componenților amestecului din probă. În toate variantele, separarea precede analiza şi se realizează prin repetarea, de un număr mare de ori, a echilibrului de distribuție între două *faze*. Una dintre faze este imobilă şi poartă denumirea de *fază staționară* (aflată de regulă într-un tub numit coloană) iar cealaltă - *faza mobilă* - aflată în mişcare, se deplasează prin golurile primei faze. Separarea se petrece în *coloana cromatografică*, *piesa* cheie a întregii metode. Faza mobilă, denumită şi *eluent* - scurgându-se continuu (deci cu viteză constantă) prin interstițiile fazei staționare, adeseori poroase, poate provoca migrarea, cu viteze diferite, a celor n componenți ai amestecului de separat de-a lungul coloanei. Amestecul supus separării se introduce sub formă de soluție la începutul coloanei, folosindu-se un dispozitiv de introducere a probei (de exemplu o micro-seringă), şi se află inițial *fixat* într-o zonă îngustă de la începutul coloanei. Spălați de eluent, o parte din componenții *probei* migrează apoi prin coloană cu viteze diferite. Acest lucru se datorează interacțiunilor fizice specifice, dintre moleculele probei şi faza staționară (desigur, nu orice moleculă poate migra pe orice fază staționară). Efectul, este numit retenție şi aceasta provoacă o aşa-numită *migrare diferențiată*. Adică moleculele migrează în *grupuri*, în fiecare grup existând doar molecule de acelaşi fel. Aceasta face posibilă sesizarea componenților, pe rând, la părăsirea coloanei, de către un instrument, în grupurile respective - denumite uneori zone. Instrumentul amintit este un analizor fizico-chimic, sensibil la mai mulți (în mod ideal la oricare) dintre componenți ce ies din coloană şi care este plasat în eluent, imediat după ieşirea din coloană. Acest analizor, denumit *detector* este capabil să dea un semnal proporțional cu masa sau cu concentrația soluției de component în faza mobilă. În consecință, dispozitivul, "marchează" trecerea fiecăreia din substanțele ce formează inițial proba, similar cu o fotocelulă care înregistrează trecerea concurenților la sosire în atletism. Reprezentarea grafică a semnalului detectorului în funcție de timp poartă numele de *cromatogramă*.

Clasificarea tehnicilor cromatografice

S-au imaginat şi realizat numeroase variante ale metodei cromatografice, diferind unele de altele în primul rând prin natura fazei mobile, dar şi a celei staționare. Astfel se distinge *cromatografia de lichide (LC)* când faza mobilă este un lichid, *cromatografia de gaze (GC)* când aceasta este un gaz sau *cromatografia cu fluide supracritice* la care faza mobilă este un lichid aflat peste temperatura critică. În cadrul cromatografiei de lichide se mai face distincție între cromatografia *pe coloană deschisă* şi cea *pe coloană închisă* Pe de altă parte, în cadrul fiecăreia dintre acestea, distingem mai multe variante.

În cadrul LC se disting, în funcție de mecanismele de separare:

÷ *Cromatografia de adsorbție*, una dintre primele tehnici utilizate, veche de mai bine un secol (Țvet, 1903), utilizată pentru separarea substanțelor organice cu molecule de dimensiuni mici şi medii pe adsorbenți, ca *silicagel* şi *alumină*, folosindu-se, ca faze mobile, diferite amestecuri de solvenți organici.

÷ *Cromatografia ionică (de schimb ionic*), care se petrece pe o fază staționară solidă, poroasă, formată din materiale specifice - *schimbătorii de ioni* - substanțe cu o rețea solidă afânată, de natură organică sau anorganică, pe care se găsesc grefate, prin procesul de obținere, nişte *centre de schimb ionic*. Cele mai răspândite sunt *răşinile schimbătoare de ioni* - organice - la care scheletul-suport este unul organic - un polimer poros. Pe aceste centre are loc o reacție ionică sau o interacțiune între substanța din soluție (electrolit sau neelectrolit) şi funcțiunea legată chimic de suportul solid, numită reacție de schimb ionic.

÷ *Cromatografia de excluziune sterică* se desfăşoară pe faze staționare poroase dar cu porozitatea selecționată astfel încât să corespundă dimensiunilor moleculelor supuse separării. O parte dintre molecule intră prin pori, reuşind să interacționeze cu suportul solid, prin forțe de adsorbție foarte slabe, iar altele sunt *excluse* deplasându-se practic nereținute odată cu faza mobilă. Se obține astfel un soi de *sită* la scară moleculară separarea moleculelor făcându-se în funcție de dimensiune. Tehnica se mai întâlneşte şi sub denumirea de *filtrare prin geluri* sau *permeație prin geluri* în funcție de natura apoasă sau organică a fazei mobile.

÷ *Cromatografia lichid-lichid* (LLC), în care faza staționară este o fază lichidă, nemiscibilă cu cea mobilă şi imobilizată pe un suport solid, într-o coloană. Aici suportul solid este, cel puțin principial, inert față de componentele din probă. Întrucât simpla impregnare a unui suport poros cu un lichid permitea spălarea acestuia în timp, s-a recurs la legarea pe cale chimică a acestora de suport, obținându-se nişte faze cu totul specifice - *faze staționare legate chimic*. Molecule organice de dimensiuni mici sunt, prin sinteză, legate de suportul

poros, fenomenul de pierdere prin spălare de către faza mobilă, fiind practic anulat. Acestă tehnică este cea mai răspândită devenind aproape sinonimă cu *cromatografia de lichide*.

÷ *Cromatografia pe coloană deschisă* sau *cromatografia planară* (PC), se referă la un grup de tehnici înrudite cu cele din LC, care au toate în comun faptul că faza mobilă circulă printr-un material poros *dispus într-un plan* şi formând un strat relativ subțire, dar de compoziție asemănătoare cu cele menționate la cromatografia pe coloană. Se disting:

÷ *Cromatogafia pe hârtie*, tehnică în care faza staționară este o hârtie poroasă din celuloză (inițial o hârtie de filtru) care este irigată de solvent prin forțe capilare - o tehnică, azi, de importnță istorică.

÷ *Cromatografia pe strat subțire (TLC)*, în care faza staționară pulverulentă este fixată de suportul plan (sticlă, aluminiu, material plastic) cu un liant, formând un strat subțire (0.1-0.5mm) de asemenea irigată prin capilaritate.

÷ *Cromatografia pe strat subțire de înaltă performanță (HPTLC)*, în care faza staționară are granulație extrem de fină ridicându-se astfel eficiența separărilor dar şi viteza acestora.

Toate acestea se caracterizează prin simplitate, accesibilitate şi preț de cost coborât, dar totodată prin performanțe ceva mai slabe decât cromatografia de lichide pe coloană sub presiune ridicată (HPLC) varianta modernă a LC.

În mod analog, în cazul *cromatografiei de gaze* (sau mai pretențios cromatografiei în fază gazoasă), denumită prescurtat GC se disting următoarele tehnici:

÷ *Cromatografia gaz-lichid* în care faza staționară este un lichid nevolatil imobilizat pe un suport solid. Aici suportul poate fi unul granular, poros, situat într-o coloană în aşa-numita cromatografie de gaze *convențională* sau chiar pe pereții coloanei, confecționată de dimensiuni capilare, în *cromatografia pe coloană capilară*.

÷ *Cromatografia gaz-solid* este analogă cu cele discutate la cromatografia de adsorbție şi la cea de excluziune sterică cu deosebirea că schimbarea gazului nu modifică selectivitatea. Faza staționară o constituie tot silicagelul sau alumina, respectiv “sitele moleculare” (nişte silicați naturali sau sintetici) respectiv granulele de carbon poros. Metoda este extrem de importantă pentru separarea gazelor permanente (CO, CO_2, O_2, N_2, gaze nobile etc.)

Din punct de vedere istoric, evoluția cromatografiei a cunoscut o suită de progrese, care au adus-o din situația inițială de metodă de separare şi purificare de laborator la o tehnică de separare şi analiză chimică cu o arie de aplicare aproape universală. Inițial rusul Țvet, a introdus în 1903 cromatografia de lichide pe coloană (LC). Această metodă a fost uitată multă vreme şi abia după 1930, anul descoperirii cromatografiei în strat subțire pe alumină, s-a perfecționat metoda utilizând coloana, o dată cu nevoile de separare şi purificare a compuşilor organici naturali sau sintetici implicați în biochimie. În 1941 enlezii Martin şi Synge

descoperă cromatografia de repartiție pe hârtie, reușind să separe cu ajutorul unui amestec de solvenți care irigă o bandă de hârtie de filtru (conținând o picătură de probă) aproape toți aminoacizii, descoperire extrem de importantă pentru dezvoltarea ulterioră a biochimiei. Doar în 1952 aceiași A. J. P. Martin and R. L. M. Synge [102] au înlocuit faza mobilă lichidă cu un gaz, realizând pentru prima oară cromatografia de repartiție gaz-lichid. În această variantă, detecția a fost realizată fizico-chimic, în efluentul gazos, după ieșirea din coloană, reușind astfel să îmbunătățească marcant separările. Din acest moment asistăm la demarajul extraordinar al acestor tehnici, devenite azi câteva din principalele mijloace de analiză în chimia organică și biochimie, dar și în criminalistică, igienă, controlul alimentelor, industria metalurgică etc. Din 1968 Halazs, (profesor la Franckfurt/Main), a pus la punct LC folosind un solvent sub presiune în calitate de fază mobilă și detecție fizico-chimică în efluentul lichid, acesta fiind începutul dezvoltării cromatografiei de lichide sub presiune înaltă (200 atm). Din 1980 s-a reușit și obținerea unor separări analitice performante bazate pe schimb ionic - prin introducerea eluenților diluați și a supresorului ionic - datorate americanilor Hamisch și Schmall, tehnică care de atunci a primit denumirea de *cromatografie ionică* (IC). Azi se lucrează nu numai cu cromatografe de laborator, analitice, ci și cromatografe de proces, dedicate analizelor automate ale proceselor industriale sau cromatografe preparative, destinate obținerii de substanțe pure în industria farmaceutică sau în biotehnologii.

[102] Cei doi au preimit premiul Nobel pentu chimie, vezi http://www.nobel.se/chemistry/laureates/1952/

Cromatograma: elementele acesteia şi mărimi fundamentale

În orice tip de cromatografie detectorul dă un semnal proporțional, uneori cu concentrația, alteori cu masa componentului aflat în celula de măsură, semnal ce poate fi înregistrat în funcție de timp. Diagrama semnal, funcție de timp sau de volumul de eluent se numește *cromatogramă*. Pe cromatogramă distingem o serie de maxime, numite *picuri* (peak = vârf în l. engleză), care se produc deasupra *liniei de bază* sau a porțiunii orizontale a curbei, paralelă cu axa timpului. Aceasta apare ori de câte ori în detector nu apare nici un component, în afara eluentului evident.

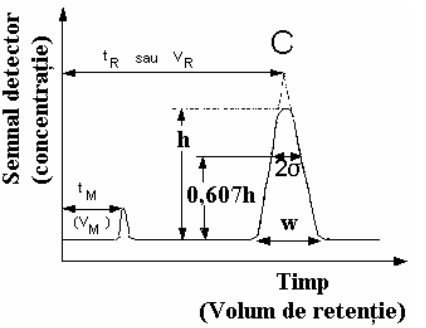


Fig. 1. Elementele unei cromatograme

Oricare pic are, în cazul ideal, forma distribuției normale Gauss. Să considerăm cea mai simplă cromatogramă posibilă: cazul introducerii unui singur component, într-un gaz, C, care conține urme de aer - aerul fiind un *component inert*. Aspectul acestei cromatograme este cel prezentat în fig. 1. Pe axa absciselor s-a considerat timpul (sau volumul) de eluent scurs, cu debit cunoscut, de la introducerea (injectarea) probei, iar pe cea a ordonatelor, semnalul detectorului - în unități arbitrare. Distingem următoarele *elemente* de bază:

÷ *Picurile cromatografice*. În cazul prezentat în fig. 1, cele două semnale sau vârfuri sunt denumite *picuri*. Acestea sunt semnalele valorificabile în analiza calitativă şi cantitativă în toate metodele cromatografice. Primul pic, mai mic, corespunde unui component inert (aerul de exemplu în CG) - care nu este reținut de loc - iar cel de-al doilea, notat cu C, corespunde componentului (unic în cazul de față) al probei considerate şi este datorat moleculelor care se distribuie pe parcursul migrării prin coloană între faza mobilă şi cea staționară şi care, în consecință, ies mai târziu din coloană.

÷ *Timpul mort*, t_M - este timpul în care un component, complet nereținut de către faza staționară, parcurge coloana şi tuburile de legătură până la detector. Acesta nu poate fi zero. În cazul CG timpul mort, de exmplu, este egal cu timpul de retenție al aerului: $t_M = t_R$ (R = Retenție). Deci, cu alte cuvinte, reprezintă timpul scurs de la injectarea (introducerea)

probei în coloană şi apariția maximului de concentrație în detector, pentru componentul nereținut.

÷ *Timpul de retenție*, t_R - o mărime caracteristică pentru fiecare component al amestecului separat de coloană - reprezintă timpul scurs de la injectarea probei şi apariția maximului de concentrație în detector [103]. De exemplu, în cazul prezentat anterior în fig. 1, acesta este distanța de la axa ordonatelor (începutul cromatogramei) până la verticala prin vârful piculuiC. Acest timp, pentru un component şi o coloană (plus condiții experimentale) date este constant, indiferent dacă componentul respectiv este singur sau în amestec.

÷ *Volumul de retenție*, V_R este volumul de eluent corespunzător timpului de retenție (legat de timpul t_R prin intermediul debitului eluentului, F_e):

$$V_R = t_R \cdot F_e \qquad (1)$$

÷ *Timpul de retenție ajustat*, t_R'- introdus în cromatografie pentru a se putea compara timpii măsurați pe coloane diferite, în cazul aceluiaşi component - este dat de diferența:

$$t_R' = t_R - t_M \qquad (2)$$

÷ Corespunzător există şi un *volum de retenție ajustat*, $V_R' = V_R - V_M$ unde V_M este *volumul mort*; acest volum mort este legat de debitul eluentului coloanei, F_e, prin produsul: $V_M = t_M \cdot F_e$, şi reprezintă volumul golurilor din coloană plus volumul tuburilor de legătură de la coloană la detector.

[103] Simbolurile utilizate în continuare sunt cele recomandate de *IUPAC* - publicate în Pure&Appl. Chem. 65(4), 819, (1993)

Cromatograme ideale şi reale

Aspectul unui pic dintr-o *cromatogramă ideală* este acelaşi cu curba obținută prin reprezentarea grafică a *funcției de distribuție a erorilor* (Gauss), a cărei expresie, scrisă în coordonate carteziene x,y este:

$$y(x,\mu,\sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}}\exp(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2});\ y(x,0,1) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}}\exp(-\frac{x^2}{2}) \qquad (3)$$

unde μ - o constantă - simbolizează *media distribuției*; în cazul cromatografiei aceasta corespunde chiar timpului de retenție, iar σ - abaterea standard a distribuției - tot o constantă care reprezintă distanța pe axa absciselor de la maxim la punctul de inflexiune al curbei de eluție (fig. 1). Valoarea σ reflectă chiar lărgirea picului la trecerea acestuia prin coloană.

O expresie şi mai simplă a acestei funcții consideră că axa ordonatelor trece chiar prin maximul picului (μ= 0) iar σ = 1 (ec. 3).

Ultima ecuație este o curbă simetrică cu un maxim pentru x_{max} = 0 şi y_{max} = $1/\sqrt{2\pi}$ = 0.399 care mai are şi două puncte de inflexiune, pentru x = ±1 şi y = 0.242 adică ~60,6% din valoarea y_{max}. Lățimea picului la punctul de inflexiune este 2σ pentru ecuația (3) şi evident σ=1 pentru reprezentarea funcției (4).

Prin convenție, în cromatografie $w_{1/2}$ simbolizează lățimea picului la jumătate din înățimea sa [104] şi $w_{1/2}$ = 2.35σ iar σ^2 poartă numele de *dispersia picului*. Lățimea picului la bază notată w se măsoară de fapt la 13.5% din înălțime unde în mod riguros w = 4σ.

Picurile reale nu respectă întotdeauna forma gaussiană din mai multe motive. Pe de-o parte, coeficientul de distribuție K nu este constant la orice concentrație iar pe altă parte, mai există şi diferențe între viteza eluentului transversal prin coloană şi anume în vecinătatea pereților aceasta este practic zero pe când la mijloc este maximă.

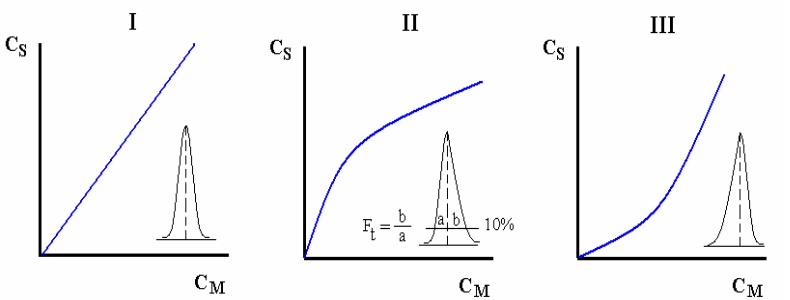


Fig. 2. Picuri reale a căror apariție se datoreşte izotermelor de adsorbție; depăşirea domeniului liniar al coloanei atrage după sine apariția asimetriilor

[104] w reprezintă o prescurtare de al width = lătime - în l. engleză.

Formele posibile pentru picuri depind de forma funcției $C_S = f(C_M)$ adică de izoterma de adsorbție (desigur mecanismul nu este întotdeauna acesta). Când izoterma este liniară (I) avem picuri simetrice. Când aceasta este convexă (II) sau concavă (III) avem picuri asimetrice (fig. 2). Acestă asimetrie, întâlnită relativ frecvent, se evaluează cu un *factor de asimetrie* (sau de *trenaj*), F_t. Acest factor se calculează prin raportul distanțelor, de la dreapta $y = x_{max}$ la cele două ramuri, măsurată la 10% din înălțime, adică:

$$F_t = b/a$$

În cazul izotermelor convexe $F_t > 1$ iar în cazul celor concave (III pe fig. 2) $F_t < 1$, ultimele fiind extrem de rare.

Mărimi şi ecuații caracteristice unei coloane

Factorul de retenție, R_F reprezintă raportul, subunitar, dintre vitezele de deplasare prin coloană ale unui component şi ale eluentului. Cum vitezele amintite se pot calcula din raportul spațiului parcurs în unitatea de timp, lungimea coloanei fiind notată L_{COL}, avem conform definiției:

$$R_f = \frac{\frac{L_{col}}{t_R}}{\frac{L_{col}}{t_M}} = \frac{t_M}{t_R} = \frac{V_n^o}{V_R^o} \qquad (4)$$

Coeficientul de distribuție, K (sau K_D) este o mărime identică celei din extracție (repartiția între faze) definit întotdeauna prin raportul dintre concentrațiile componentului în chestiune din fazele staționară, C_S, respectiv mobilă, C_M. Conform definiției (după Nernst):

$$K = \frac{C_S}{C_M} \qquad (5)$$

În cazul cromatografiei de adsorbție acesta a fost denumit *coeficient de adsorbție*, în cazul cromatografiei de schimb ionic (denumită ulterior cromatografie ionică), *coeficient de distribuție ionică* iar în cadrul cromatografiei de excluziune sterică *coeficient de difuziune*.

Factorul de capacitate, k (notat în tratate mai vechi k') se definește ca raportul dintre numărul de moli distribuiți între fazele: staționară, , respectiv mobilă. Numărul de moli din faza staționară pot fi exprimați prin produsul $C_S \cdot V_S$ iar din cea mobilă $C_M \cdot V_M$ unde C sau notat concentrațiile molare şi cu V_S respectiv V_M s-au notat volumele fazelor - staționară respectiv mobilă - din coloană, volumul ultimei fiind egal numeric cu volumul mort al coloanei. Ecuația de definiție pentru k este aşadar:

$$k = \frac{C_S \cdot V_S}{C_M \cdot V_M} \qquad (6)$$

În ultimul timp a primit şi denumirea de *factor de separare.* Acest factor este legat de timpul de retenție, respectiv de cel mort, printr-o ecuație simplă:

$$t_R = t_M(1+k) \qquad (7)$$

Deci, *cu cât factorul de capacitate este mai mare coloana reține mai puternic un component* iar timpul de retenție crește. Pe de altă parte din ecuația anterioară se poate vedea că dacă k = 0 atunci $t_R = t_M$.

Pentru determinarea practică a valorii k se exprimă această mărime din ecuația de mai sus, şi ținând cont de cele amintite anterior, anume: $t_R' = t_R - t_M$ se obține relația de calcul:

$$k = t_R'/t_M \qquad (8)$$

Retenția relativă, α, a mai fost denumită şi *factorul de separare* tocmai pentru că, cu cât valoarea acestuia este mai mare cu atât poziția picurilor pe aceiaşi cromatogramă este mai

distanțată - deci separarea pe coloana respectivă este mai netă. S-a constatat că influența variabilelor experimentale este cu mult mai redusă dacă se utilizează pentru exprimarea retenției această retenție relativă. Pentru calculul acesteia trebuie efectuată măsurarea, atât pentru componentele probei cât și pentru o substanță considerată etalon (sau standard) a timpului (sau volumului) de retenție, în condiții absolut identice. De multe ori substanța etalon este parte a probei și nu este adăugată intenționat. Retenția relativă se poate exprima astfel:

$$\alpha_{2/1} = t_R'/(t_R')_{std} = K_2/K_1 \qquad (9)$$

unde K_2 și K_1 sunt coeficienții de distribuție (vezi expresia K de mai sus) ai substanțelor 2 respectiv 1, iar cu 1 s-a notat substanța etalon (standard). Substanțele recomandate în calitate de substanțe standard în GC, în vederea calculării retenției relative, sunt n - alcanii.

Numărul de talere teoretice al coloanei, n. Conform *teoriei talerelor* migrarea unei substanțe separate prin coloană se poate descompune teoretic într-o succesiune de deplasări prin dreptul a n mici incinte din interiorul coloanei în care au loc echilibre perfecte între fazele staționară, din incinte, și cea mobilă. Similar cu distilarea pe coloane prevăzute cu talere, aceste mici incinte ideale au fost denumite *talere teoretice*. Lungimea porțiunii dintr-o coloană, ce corespunde unei asemenea incinte, pe parcursul căreia se realizează un echilibru termodinamic, se notează cu H și poartă numele de *înălțime echivalentă a unui taler teoretic*. Aceasta caracterizează performanța coloanei și se poate calcula din raportul:

$$H = L_{col}/N \qquad (10)$$

unde cu L_{COL} s-a notat lungimea coloanei iar cu N numărul de talere teoretice. Cu cât valoarea H este mai mare separarea este mai bună. Numărul n se poate calcula pe baza cromatogramei obținute experimental din *lățimea picului la bază*, w_b, care după cum se vede din fig. 1, este de 4 ori valoarea dispersiei curbei gaussiene care modelează matematic picul, ceea ce permite scrierea ecuației:

$$w_b = 4\sigma \qquad (11)$$

Valoarea *numărului de talere teoretice* N constituie de asemenea o măsură a eficacității (totale) a coloanei cromatografice utilizate într-o separare sau analiză concretă. Pentru un component dat acest număr reprezintă patratul raportului dintre timpul de retenție și deviația standard asociată picului corespunzător:

$$N = t_R^2/\sigma^2 \qquad (12)$$

La o examinare mai atentă acest raport reprezintă patratul numărului de picuri ce ar încăpea pe o cromatogramă în intervalul corespunzător timpului t_R, picurile fiind separate toate doar parțial (de exemplu cele cu rezoluția $R_S = 0.75$, așa cum se prezintă pe fig. 3a.

Se poate observa că, înlocuind σ din ecuația (11), avem:

$$N = 16t_R^2/w_b \quad (13)$$

Aceeaşi ecuaţie scrisă în funcţie de lăţimea picului la jumătate ($w_{1/2}$) este:

$$N = 5.54t_R^2/w_{1/2}^2 \quad (14)$$

Se mai poate observa şi că, cu cât valoarea n este mai mare, picurile sunt mai înguste ($w_{1/2}$ scade). Deci, cu cât numărul de talere este mai mare cu atât vor "încăpea" mai multe picuri pe aceeaşi cromatogramă. Întrucât se pot separa mai multe componente şi separarea picurilor, două câte două, va fi mai netă se consideră coloana mai eficientă.

Observaţie: mărimile t_R şi w_b (respectiv $w_{1/2}$) se vor exprima întotdeauna în aceleaşi unităţi - deci numărul de telere teoretice, N, este adimensional; de regulă ambele mărimi (t_R şi w_b) se exprimă în mm, măsuraţi direct de pe hârtia înregistratorului.

Cum în timpul mort, t_M nu poate ieşi din coloană nici un component al amestecului injectat, în cromatografie se mai utilizează o mărime: *numărul efectiv de talere teoretice*, N_{ef}, considerat un număr mai apropiat de realitate decât celălalt (N) tocmai pentru că nu se mai ia în calcul timpul mort - practic timpul în care componentul nu se află încă în coloană:

$$N_{ef} = t_R'^2/\sigma^2 = 16(t_R-t_M)^2/w_b = 5.54(t_R-t_M)^2/w_{1/2}^2 \quad (15)$$

Din ecuaţia (13) se poate scoate w_b şi prin înlocuire în (15) se poate apoi exprima N_{ef} funcţie de numărul de talere teoretice, N:

$$N_{ef}/N = (t_R-t_M)^2/t_R^2 \quad (16)$$

unde, înlocuind t_R din (7) şi exprimând apoi N_{ef} din (16), avem:

$$N_{ef} = Nk^2/(1+k)^2 \quad (17)$$

Rezoluţia, simbolizată R_S, este mărimea ce exprimă gradul de separare a două componente date de pe o cromatogramă. Pentru componentele oarecare A şi B aceasta se exprimă prin raportul

$$R_S = \frac{\Delta t_R}{2(\sigma_A + \sigma_B)} = \frac{\Delta t_R}{\overline{w}_b} \quad (18)$$

unde Δt_R este diferenţa dintre timpii de retenţie ai componentelor B şi A adică $\Delta t_R = t_{R,B} - t_{R,A}$, iar $w_{1/2}$ reprezintă *lăţimea medie a picurilor la bază*, $w_{1/2} = (w_A + w_B)/2$. Rezoluţia mai poate fi exprimată datorită nevoilor practice şi în variantele:

$$R_S = \frac{t_{R,B} - t_{R,A}}{0.5 \cdot (w_B + w_A)} \quad (19)$$

Pentru două picuri alăturate $R_S = 1$ iar pentru două picuri complet separate $R_S = 1.5$ (fig. 3). Rezoluţia egală cu unitatea reprezintă o separare de 98% între cele două picuri.

O altă expresie a rezoluţiei se poate obţine pe baza notaţiilor:

$$\Delta t_R = t_M(k_B - k_A);\ \sigma = \sigma_B = t_{R,B}/(N)^{1/2} = t_M(1+k_B)/(N)^{1/2};\ k_B/k_A = \alpha$$

care înlocuite în expresia (19) duc (vezi anexa) la ecuaţia:

$$R_S = \left(\frac{\sqrt{N}}{4}\right)\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)\left(\frac{k_B}{1+k_B}\right) \qquad (20)$$

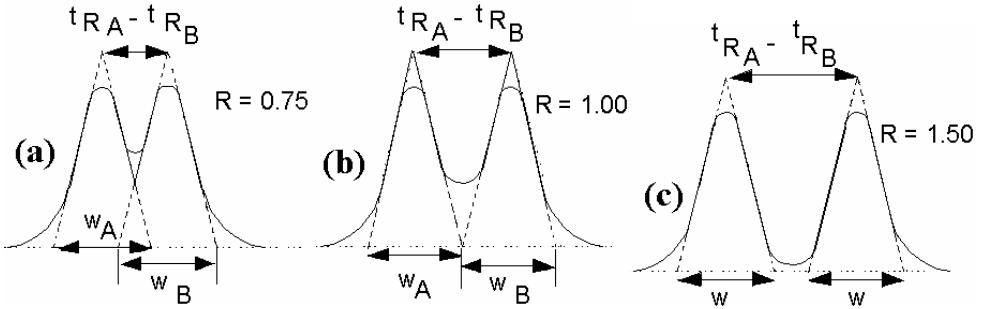


Fig. 3. Picuri cromatografice separate între ele cu diverse rezoluții

Această exprimare este importantă pentru că reflectă *cei trei factori de care depinde rezoluția* prin cele trei paranteze (fig. 4), în ordine: prima - *eficiența*, a doua - *selectivitatea*, şi a treia - *capacitatea de separare* a coloanei. În ultima ecuație N se referă la ambele picuri considerate egale ca lățime adică $N = (N_A + N_B)/2$.

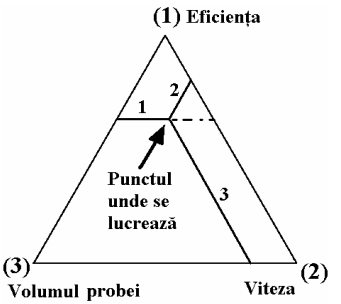


Fig. 4. Compromisul realizat în orice separare cromatografică între:
÷ *eficiență - 1*
÷ *viteză - 2*
÷ *volumul probei - 3*

Pentru o coloană şi un sistem supus separării date, încercând să mărim cantitatea de probă pierdem din rezoluție pentru că depăşim capacitatea de sorbție (ad- sau absorbție) a coloanei. În general suma dintre cantitatea de probă, eficiența coloanei (sau rezoluția) şi viteza de separare este o constantă. Considerând valori reduse (unitare) pentru fiecare dintre acestea ne putem imagina poziția noastră, în fața unei probleme de separare, ca pe un punct din interiorul unui triunghi echilateral, cu laturile 1 (redat în fig. 4). Suma paralelelor la cele trei laturi este întotdeauna 1. Deci întotdeauna facem un compromis: ca să câştigăm în viteză, renunțăm la rezoluție şi la cantitatea de probă sau ca să separăm cantități mari de probă va trebui să sacrificăm atât rezoluția cât şi viteza. În analiza chimică este foarte importantă mai ales eficiența (proporțională cu pătratul rezoluției). De aceea, se va lucra întotdeauna cu o cantitate minimă de probă şi cu viteza optimă încercând prin modificarea naturii coloanei (compoziția fizico-chimică, lungimea, temperatura, viteza eluentului) sau a compoziției fazei mobile (doar în LC) să modificăm parametrii separării a două componente K, N, k şi α pentru a asigura separarea completă a amestecului de interes practic.

Ecuația lui Van Deemter

Această ecuație exprimă contribuția diverșilor factori la lărgirea zonei unui anumit component, în timp ce acesta migrează prin coloană cu o viteză medie v. Inițial creată ca model matematic pentru GC, ecuația poate fi generalizată pentru oricare tip de cromatografie, după cum s-a constatat ulterior. Aceasta conține expresia analitică a valorii înălțimii echivalente a talerului teoretic - H - în funcție de viteza liniară medie, v, a eluentului de-a lungul coloanei. Cea mai simplă şi totodată mai cunoscută expresie este cea descoperită inițial de Van Deemter pentru cromatografia de gaze:

$$H = A + B \cdot v + C/v \qquad (21)$$

unde A, B şi C sunt, pentru o coloană dată, nişte constante. Dar aceste constante au în realitate fiecare nişte dependențe funcționale ce țin de natura fizică a fazelor staționară şi mobilă, de diametrul şi de natura umpluturii, dar şi de condițiile de operare: temperatură, presiuni etc. Graficul acestei ecuații *este o curbă cu un minim* (vezi fig. 5), adică o ramură a unei hiperbole ce trece printr-un minim. Se observă că înălțimea talerului, H, are un optim pentru o viteză care se poate calcula. Anume, prin derivarea ecuației lui Van Deemter şi egalarea cu zero a rezultatului derivării, se obține:

$$v_{opt} = \sqrt{\frac{C}{B}} \qquad (22)$$

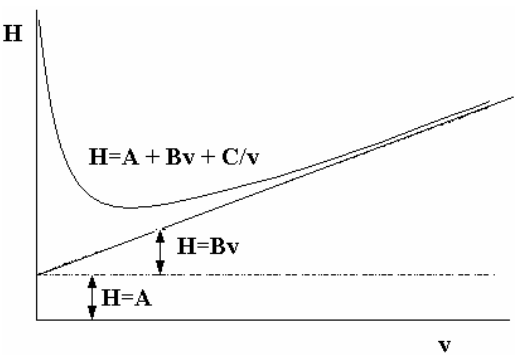


Fig. 5. Ecuația lui Van Deemter

Prin înlocuirea valorii v cu v_{opt} în ecuația inițială se obține optimul pentru H (adică minimul):

$$H_{min} = A + 2\sqrt{BC} \qquad (23)$$

Pentru v_{opt} se realizează deci *eficiența maximă a coloanei*. Valorile A, B şi C se obțin experimental din graficul construit în coordonate similare celei din fig. 5 sau prin calcul făcându-se mai multe determinări de înălțime a talerului teoretic H la diverse viteze medii ale eluentului. Termenul A, constant, legat de difuzia turbulentă şi implicit de geometria

umpluturii, este practic constantă într-o coloană. Termenul B este legat puternic de difuzia longitudinală, deci mai ales de coeficientul de difuzie în gazul purtător - determinant, dar constant într-un montaj instrumental dat - iar temenul C de transferul de masă, aşadar de cinetica procesului de fixare a componentului pe faza staționară, deci legat direct de natura fazei staționare, respectiv de specia moleculară care migrează prin coloană.

Mărind viteza eluentului, în intenția de a grăbi ieşirea din coloană a componentului şi a scurta analiza, de cele mai multe ori stricăm separarea în ansamblu prin lărgirea excesivă a picurilor, deoarece echilibrul dintre C_M şi C_S nu apucă să se realizeze, iar picul este *spălat* de eluent mai departe prin coloană. Din contră, micşorând viteza prea mult, apare o lărgire excesivă din cauza celor două difuzii, mai ales a celei în fază gazoasă, care de asemenea strică separarea.

În cromatografia de lichide porțiunile liniare crescătoare, de după minim, au pantele mai puțin abrupte datorită difuziei în fază lichidă cu mult mai lentă în lichide decât în cazul gazelor, de circa 1000 de ori. Astfel, contribuția primilor doi termeni din ecuația lui Van Deemter este mult diminuată şi în general lărgirea zonei în LC are valori mai mici.

În cazul cromatografiei de gaze cu coloană capilară s-a demonstrat că eficiența coloanei exprimată prin înălțimea talerului, H, este influențată de factorul de capacitate (sau de retenție) k precum şi de raza coloanei capilare, r:

$$H_{min} = r \cdot \sqrt{\frac{1+6k+11k^2}{3(1+k)^2}} \qquad (24)$$

Se poate remarca că valoarea H este cu atât mai mică cu cât raza, r scade.

Întrebări de verificare

1. Care este semnalul exploatat atât calitativ cât şi cantitativ în cromatografie?
2. Care este prima metodă cromatografică cunoscută (care are o vârstă de circa 1 secol)?
3. Care din componenții amestecului din probă provoacă *punctul mort*?
4. La ce serveşte timpul de retenție ajustat?
5. Ce se întâmplă cu timpul de retenție când factorul de capacitate, k, crește?
6. Care sunt principalele mecanisme de separare în cromatografie?
7. Care mărimi se utilizează practic pentru caracterizarea şi compararea performanțelor coloanelor?
8. De ce s-a introdus rezoluția?
9. Ce exprimă ecuația lui Van Deemter?
10. Care este termenul din ecuația lui Van Deemter care determină forma de hiperbolă.
11. Ce factori afectează rezoluția?
12. Ce parametru sacrificăm în GC când mărim, simultan, atât viteza cât şi volumul de probă?
13. La rezoluția 1 picurile sunt complet separate?
14. Care sunt mărimile care influențează eficiența separărilor în cromatografia de gaze cu coloană capilară?

Ce odată a fost inventat, nu mai poate fi dezinventat
Margaret Thatcher, chimistă, Fost Prim Ministru a Marii Britanii

Cromatografia de gaze (GC)

Această tehnică cromatografică este printre cele mai răspândite şi totodată este prima dintre metodele de analiză cromatografică aplicată pe scară largă în analizele chimice. Compuşii amestecului supus separării nu trebuie să fie neapărat gaze, ci pot să fie şi lichide sau chiar solide volatile. Substanţele de analizat se introduc în coloana de separare, la o temperatură potrivită, prin intermediul unui dispozitiv de introducere a probei. Singura restricţie este temperatura de vaporizare care uneori poate fi mai mare decât temperatura de descompunere a substanţelor de analizat. În aceste cazuri se poate recurge la alte tehnici cromatografice care au ca eluent un lichid sau fluid supracritic. De asemenea, se mai pot realiza, înainte de introducerea probei în cromatograf, nişte derivaţi (compuşi noi), volatili, utilizând anumite reacţii chimice specifice, procedeu denumit *derivatizare*. Uşurinţa cu care se pune la punct o analiză nouă, sensibilitatea sa, posibilitatea de automatizare precum şi largile posibilităţi de aplicare sunt avantajele principale ale acestei metode. Printre domeniile în care GC şi-a cucerit un loc de prim rang sunt: petrochimia, industria farmaceutică, protecţia mediului, analiza aromelor, igiena şi criminalistica.

Cromatograful de gaze

Instrumentul care realizează separările şi totodată analiza în GC poartă numele de *cromatograf de gaze*. Funcţionarea acestuia se poate înţelege urmărind schema din fig. 1.

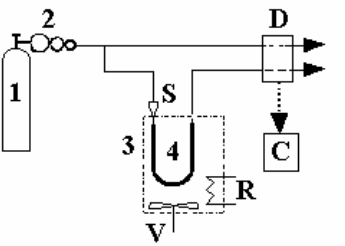


Fig. 1. Schema de principiu a unui cromatograf de gaze

Schiţa prezintă concis doar componentele principale. Astfel gazul purtător (eluentul), de exemplu hidrogenul sau heliul, părăseşte *cilindrul sub presiune*, 1, în care acesta se găseşte iniţial şi pătrunde în coloană, la o presiune de intrare, cu ceva peste cea atmosferică (1-3atm), prin intermediul unui *reductor* 2. Apoi gazul se ramifică (opţional) prin două conducte. O parte intră în coloană, în mod continuu iar cealaltă ramură, direct în detector. *Coloana* 4, se

află într-o *etuvă - termostat*, 3, izolată termic şi prevăzută în exterior cu un *dispozitiv pentru introducerea probei* (care de regulă include şi o microseringă), notat S, etuvă care mai este dotată în interior cu un ventilator V şi cu un dispozitiv electric de încălzire - termostatare, R. În coloana cromatografică se produce separarea probei. Aceasta se introduce în coloană doar după ce instrumentul este în regim de funcționare continuă și a fost adus la temperatura de lucru. După ce părăsește coloana 4, gazul purtător intră, antrenând pe rând componentele separate, în celula de măsură din *detector* de unde iese în atmosferă sau se colectează separat.

Faza mobilă în această tehnică este un gaz: hidrogenul, heliul, azotul sau argonul. Aceasta poate fi eliberată, prin intermediul unor ventile și regulatoare de presiune, din cilindri de gaze presurizate, fie obținute din generatoare (cazul N_2 sau H_2) - direct în laborator. Gazul nu trebuie să conțină urme de apă, oxigen sau dioxid de carbon care pot prejudicia fazele staționare. De aceea se mai intercalează filtre cu dublu rol: uscare, respectiv, reducerea oxigenului, dispozitive situate imediat după sursa de gaz. În cazuri excepționale se pot utiliza și alți eluenți cum ar fi CO_2, Ne etc. Spre deosebire de cromatografia cu eluenți lichizi, *în GC natura gazului are o importanță minoră asupra selectivității separării* deoarece gazul, practic, nu interacționează cu componentele probei sau cu suportul. Desigur că viteza optimă nu este aceeași pentru toate gazele și se stabilește pe baza *ecuației Van Deemter*.

Presiunea de la capătul coloanei se reglează cu ajutorul unui *regulator de presiune* și ventil ac.

Introducerea probei se realizează cu așa-numitele *seringi micrometrice* (fig. 2), în cazul probelor care au volumele în domeniul 0.1-10µl. Cu acestea, după umplerea cu volumul de probă necesar, apăsând pistonul, se injectează conținutul prin cauciucul siliconic sau garnitura inelară a unui *septum* din dispozitivul de introducere a probei. Pentru gaze se folosesc fie seringi ceva mai mari, de 0.5ml, fie niște dispozitive speciale numite *ventile pentru introducerea* probei.

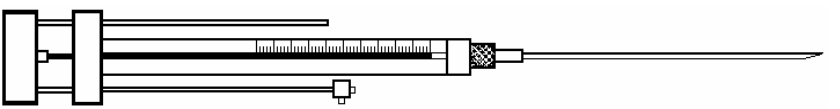


Fig. 2. Aspectul unei seringi micrometrice folosite în GC

Dispozitivele pentru injecție au rolul de a permite introducerea seringii și totodată, de a provoca volatilizarea probei în curentul de gaz purtător cât mai aproape de intrarea în coloană. Aceste dispozitive sunt diferite în funcție de coloanele utilizate. De exemplu în coloanele cu umplutură și cele capilare, cu diametre de 530µm - *wide bore*, se folosesc dispozitive *cu volatilizare directă*. Aceste dispozitive (fig. 3) au toate o inserție din sticlă,

încălzită, introdusă într-un tub prin care trece gazul purtător, aflat la o temperatură suficient de ridicată pentru a permite volatilizarea probei simultan cu injectarea acestuia. Capătul de sus al dispozitivului din fig. 3, situat în afara cromatografului, conține un *septum*, adică o pastilă din cauciuc siliconic care permite pătrunderea acului ascuțit al seringii. Celălalt capăt al dispozitivului este legat la coloana cromatografică prin intermediul unui racord filetat și a unei garnituri. Astfel, imediat după injectarea probei, aceasta pătrunde în capul coloanei.

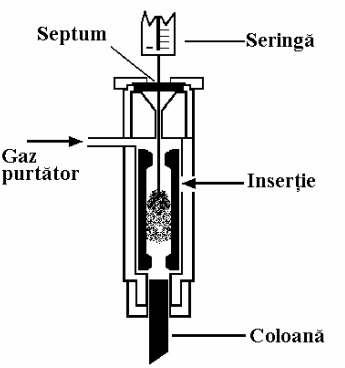


Fig. 3. Dispozitiv de injecție simplu folosit adesea în GC

Pentru coloane capilare, care au debitele mult mai mici iar volumele introduse în coloane deosebit de mici, introducerea cu o seringă a probelor, direct, ar compromite coloana definitiv. De aceea se folosesc niște dispozitive speciale cu ajutorul cărora doar o mică fracțiune din probă, cunoscută, intră în coloană iar restul este evacuată în atmosferă. Dispozitivele se numesc *split/splitless* iar fracțiunea de probă introdusă efectiv în coloană reprezintă 1/20 până la 1/500 din volumul injectat cu seringa.

Incinta termostatată în care se află coloana, numită *etuvă-termostat*, are temperatura reglabilă într-un domeniu larg (40-450°C) fiind foarte precis stabilizată (±0.1°C) și totodată ventilată, pentru o egalizare rapidă a temperaturii. La anumite cromatografe, se pot executa și *programe de temperatură*, adică încălziri controlate ale coloanei, în timp, pe parcursul efectuării analizei. Are loc în acest fel o volatilizare treptată a compușilor - la început ies cei volatili care migrează rapid și la urmă, cei mai puțin volatili care migrează foarte lent mărind mult durata analizei. Programele se stabilesc prin încercări experimentale.

Detectorii gaz cromatografici

Detectorii sunt instrumentele analitice propriu zise din gaz cromatografe, având rolul de a sesiza în mod continuu, rapid şi cu o mare sensibilitate, componentele din proba supusă analizei. În corpul detectorului zonele cromatografice care ies separate din coloană, conținând de preferință moleculele unei singure substanțe, se transformă în semnale electrice (picuri). Pentru a se putea compara, ca performanțe, fiecare detector este caracterizat de nişte mărimi fizice: specificitate, sensibilitate, zgomot de fond, drift, limită de detecție, constantă de timp, reactivitate, efect asupra probei şi altele, comune multor metode analitice. De asemenea, unii detectori distrug proba iar alții o lasă nealterată, permițând separarea fizică a acesteia. Despre sensibilitate şi limita de detecție am amintit în cursurile introductive câteva lucruri esențiale valabile şi aici. În orice gaz cromatograf trebuie să existe cel puțin un *detector universal* care să permită înregistrarea sigură a tuturor componenților. În afară de acesta mai pot exista şi alți *detectori specifici*, care măresc siguranța analizei componenților de interes practic, deoarece răspund doar la anumite tipuri de molecule.

Zgomotul de fond (fig. 4) apare din cauză că urmărindu-se ca metoda să fie cât mai sensibilă, lucrează la limita unde interferă zgomotul electronic cu cel dat de detector. Atât zgomotul de fond cât şi *driftul*, de regulă exprimat în variația semnalului, timp de o oră, sunt prezentate schematic pe fig. 4. Se observă că zgomotul de fond constă în perturbații minuscule ale liniei de bază având cauze multiple iar driftul este devierea liniei de bază într-un timp dat (1 oră) exprimat în unitățile de măsură uzuale ale semnalului înregistrat (mV, mA etc).

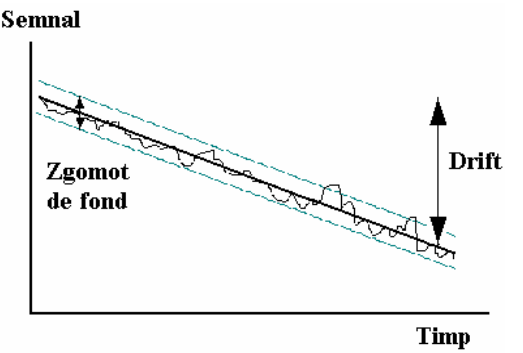


Fig. 4. Imaginea schematică a zgomotului de fond şi a driftului

Domeniul dinamic liniar al detectorului reprezintă domeniul în care semnalul variază liniar cu concentrația (sau alteori cu debitul masei de component) ce trece prin detector. Acesta se măsoară de la limita de detecție până la nivelul superior de concentrație la care apar abateri de la liniaritate de peste 5%. Domeniul dinamic liniar se stabileşte experimental prin

construirea curbei de etalonare în urma injecției unor cantități crescătoare de component. Există mari diferențe între metodele de detecție (tabelul 1) dar toate au domeniul liniar mai ridicat decât multe dintre metodele de analiză optice. Cei mai utilizați detectori sunt în practica curentă detectorii cu un domeniu liniar larg, anume: detectorul bazat pe conductibilitate termică (TCD), detectorul cu ionizare în flacără (FID), detectorul cu fotoionizare (PID) și cel cu captură de electroni (ECD). Se observă de asemenea că cei patru detectori acoperă împreună un larg domeniu de concentrații motiv pentru care gaz cromatografele comerciale au în dotare cel puțin doi din acești detectori.

Tabelul 1. Limite de detecție și domeniul dinamic pentru principalii detectori utilizați în GC

Detector	Limită de detecție ($g \cdot mL^{-1}$)	Domeniul dinamic liniar
FID - cu ionizare în flacără	10^{-12}	10^{7}
ECD - cu captură de electroni	10^{-14}	10^{4}
TCD - catarometrul	10^{-7}	10^{4}
NPD - cu emisie termo-ionică [105]	10^{-14}	10^{5}
FPD - flamfotometrici [106]	10^{-11}	10^{4}
PID - bazați pe fotoionizare	10^{-12}	10^{5}

Constanta de timp reprezintă viteza de răspuns a instrumentului din momentul intrării componentului în detector. Mai riguros, acesta reprezintă timpul necesar răspunsului detectorului pentru a atinge 90% din valoarea limită finală. Acest parametru include și întârzierea datorată electronicii.

Reactivitatea include și posibilitatea reținerii de componente ale probei sau provenite din aceasta prin degradare, prin adsorbție sau prin reacții chimice.

Efectul aspra probei poate fi distructiv sau nedistructiv. În ultimul caz proba separată poate fi izolată. De exemplu, FID este un detector distructiv pe când TCD este nedistructiv.

Detectorul bazat pe conductibilitate termică (catarometrul)

Principiul a fost cunoscut și utilizat pentru analizoare de gaze încă din secolul trecut (XX). Catarometrul a rămas detectorul cel mai utilizat și în zilele noastre deoarece este simplu, nedistructiv, universal, are stabilitate bună precum și un domeniu larg de liniaritate (tabelul 1).

Funcționarea sa se bazează pe diferența dintre conductibilitatea termică dintre component și eluentul gazos. Astfel fiecare gaz este caracterizat printr-o conductibilitate termică constantă și diferită, de la un gaz la altul. Pentru detecție se utilizează de regulă un montaj în punte *Wheatstone*. Curentul I, generat de sursa de tensiune U_i, se bifurcă scurgându-

[105] NPD reprezintă prescurtarea (l.engl.) a denumirii: nitrogen and phosphorus detector deoarece acesta este specific pentru aceste elementeleN și P. Se mai numește și detector cu ionizare termoalcalină.
[106] FPD = flame photometric detector (l. engl.)

se prin cele două brațe ale punții. Tensiunea de ieșire U_0 depinde de diferența dintre R_1 și R_2. Astfel se observă că dacă $R_1 = R_2$ atunci $U_0 = 0$. Rezistența este un filament metalic spiral (asemănător cu cel din becurile electrice) izolat electric față de incintă, prin care circulă gazul purtător. Detectorul (fig. 5) are două *celule*: una *de măsură*, R_1, căreia îi variază rezistența în funcție de componentul intrat și alta - numită *celulă de referință*, R_2, prin care trece doar gazul purtător (a cărei rezistență rămâne constantă). Volumul celulelor diferă, fiind cuprins între 2.5-100µl. Cea mai ridicată conductivitate termică dintre toate gazele o au hidrogenul și heliul. De aceea acest detector este preferat când gazul purtător este unul dintre acestea. *Catarometrul (TCD) este de altfel singurul detector capabil să analizeze gazele permanente: N_2, O_2, CO, CO_2, CH_4 etc.*, motiv pentru care nu lipsește aproape din nici un gaz - cromatograf.

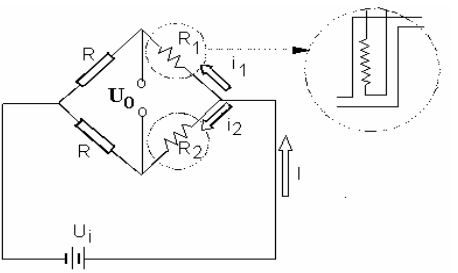


Fig. 5. Principiul de funcționare al detectorului catarometric

Detectorul bazat pe ionizare în flacără (FID)

Acesta este unul din cei mai folosiți detectori, în special datorită sensibilității sale ridicate la compușii cu carbon, practic nelipsiți din orice tip de gaz-cromatograf dedicat analizei substanțele organice. Deși distruge proba, a fost detectorul care a consacrat definitiv cromatografia de gaze. Funcționarea sa are la bază modificarea conductibilității electrice a gazelor în prezența unor particule încărcate (de regulă molecule ionizate). Dacă la presiunea și temperatura ambiantă un gaz aflat între doi conductori este un izolator foarte bun, în momentul când între cei doi electrozi apar particule încărcate electric, în urma deplasării acestora în câmpul electric creat, apare un curent electric. Ionizarea moleculelor probei este intensificată de prezența unei flăcări de hidrogen, care arde în aer într-o incintă, flacără ce atinge temperaturi ridicate (2000-2200°C).

Cele mai slabe semnale, care nu pot servi unei analize chimice, le dau substanțele alcătuite din moleculele covalente simple: N_2, O_2, CO, CO_2, H_2O, CS_2, NH_3, CCl_4, $SiCl_4$, oxizi de azot, He și alte gaze rare. De aceea *gazul purtător în cromatografia de gaze este N_2,*

He sau Ar, condiții în care detectorul dă un semnal de bază minim, foarte stabil. Schița simplificată este prezentată în fig. 6.

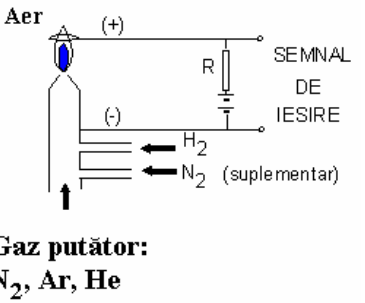


Fig. 6. Principiul de funcționare al detectorului cu ionizare în flacără (FID)

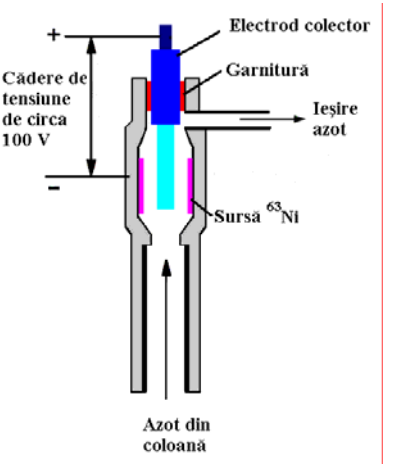


Fig. 7. Schița de principiu a detectorului cu captură de electroni (ECD)

În momentul apariției in flacără a unor molecule organice, de exemplu hidrocarburi sau derivați, ionizarea duce la un semnal (curent) specific fiecăreia dintre acestea. Curentul se transformă în tensiune pe rezistența cu valoare ridicată R. Și aici debitele gazelor trebuie să fie riguros constante. Sensibilitatea FID la fluctuațiile debitului și ale temperaturii sunt ceva mai mici decât la detectorul bazat pe conductibilitatea termică. În gazul purtător provenit din coloană, se diluează cu hidrogenul și aerul necesare și eventual cu un alt gaz inert (N_2, Ar).

FID (fig. 6) este confecționat adeseori din oțel inoxidabil iar între corpul metalic și placa cilindrică pozitivă, de deasupra sa, se aplică un potențial de polarizare de 100-300V, continuu. Răspunsul detectorului, depinde de numărul de molecule ionizate ce apar în flacără. Cele mai stabile rezultate se obțin pentru alcani. Pentru alte substanțe semnalul în general scade cu creșterea numărului de heteroatomi din moleculă. De aceea, *aici este nevoie de un factor de corecție specific pentru fiecare compus analizat*. De regulă se folosesc factori de corecție relativi, adică raportul dintre arie și unitatea de masă a unui compus de referință și răspunsul, pentru unitatea de masă a speciei chimice analizate.

Detectorul cu captură de electroni

Gazul purtător este în acest caz azotul. La pătrunderea în detector, acesta este ionizat de către o sursă β^- radioactivă (sunt suficienți câțiva mCi furnizați de o sursă conținând ^{63}Ni). Gazul, trece apoi printre doi electrozi, între care se asigură o cădere de tensiune de o sută de volți (fig. 7), de regulă între un electrod central, pozitiv și corpul electrodului - negativ.

În lipsa oricărei molecule organice în gazul purtător, există un curent de bază redus datorat moleculelor de diazot (N_2) - ionizate negativ. La apariția în detector a unei molecule organice M, care conține elemente electronegative (ca Cl sau F) - cu mare afinitate pentru electroni, aceasta va *capta* o parte dintre electronii radiației β^-. Va apărea, în consecință, o diminuare a curentului de recombinare a ionilor de semne contrare. Au loc așadar transformările:

$$N_2 \rightarrow N_2^+ + e^-, \text{ Curent de fond}$$

$$M + e^- \rightarrow M^-;\ M^- + N_2^+ \rightarrow M + N_2, \text{ Diminuarea curentului de fond}$$

Se produc deci picuri negative, ceea ce nu deranjează cu nimic rezultatul final - analiza chimică. Fiecare particulă β^- poate genera prin ciocniri între 100 și 1000 electroni termici. Aceştia având o mobilitate ridicată vor fi colectați de anod înainte de a se putea recombina cu ionii pozitivi de diazot. De aici rezultă sensibilitatea mare a metodei.

Curățirea detectorului se face prin scoaterea electrodului +, pe care se depun o mică parte dintre moleculele organice ionizate. Acest detector este unul selectiv, adecvat pentru detecția compușilor halogenați (pesticide), având o liniaritate a răspunsului aproximativă.

Detectorul bazat pe fotoionizare (PID [107])

Detectorul bazat pe fotoionizare (PID) este un detector deopotrivă sensibil şi specific pentru hidrocarburi aromatice şi cu heteroatomi (P și S) în moleculă. Dispozitivul (fig. 8) se bazează pe capacitatea razelor UV de a ioniza moleculele organice, care părăsesc coloana o dată cu gazul purtător. Analog cu metoda precedentă, bazată tot pe ionizare, ionii produși sunt colectați pe doi electrozi, cel pozitiv fiind cel demontabil (permițând astfel întreținerea periodică). Deoarece fracțiunea moleculelor ionizate este mică, PID se consideră un detector nedistructiv și poate fi înseriat cu alți detectori. Lămpile UV cu energii cuprinse între 5.6 și 11.7eV pot furniza o selectivitate suplimentară, peste 10.6eV practic toate moleculele organice ionizând.

[107] **PID** este prescurtarea de la denumirea în l. engl. **P**hoto**i**onization **D**etector

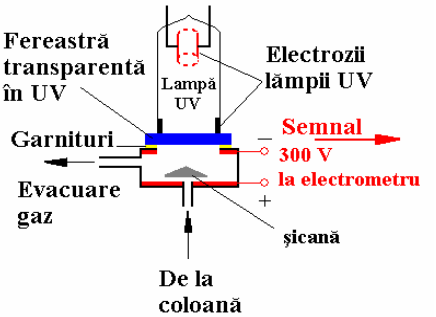


Fig. 8. Principiul de funcționare al detectorului cu fotoionizare (PID); radiațiile UV sunt furnizate de o lampă situată în contact cu camera de ionizare

Alți detectori

Mai există şi alți detectori, de exemplu *detectorul fotometric în IR* (simplu sau bazat pe transformata Fourier), *detectorul cu flamfotometru* destinat pentru detecția specifică a compușilor cu sulf şi fosfor, *detectorul bazat pe emisie atomică* cu plasmă cuplată inductiv sau *detectorul cu ionizare termoionică (termoalcalină)* - *NPD* - bazat tot pe o flacără, dar la care între flacără (cu hidrogen - aer) şi arzător se introduce o pastilă de sare alcalină, ceea ce provoacă o creştere a intensității semnalului de 100 de ori. Ultimul este un *detector specific* pentru azot şi fosfor care este util, de exemplu, pentru analize de pesticide. Mai puțin utilizați sunt detectorii cu absorbție atomică sau cel cu chemiluminescență. Dar cea mai spectaculoasă intrare în domeniul detectorilor a realizat-o recent *spectrograful de masă*, care preia direct efluentul coloanei şi în urma unei ionizări, fragmentele intră în spectrograful de masă propriu zis. Acest lucru a devenit posibil datorită calculatoarelor, care au permis prelucrarea volumului uriaş de date care se obțin pe această cale. Cuplajul denumit GC-MS este chiar mai sensibil decât detectorul bazat pe fotoionizare în UV (vezi tabelul 1).

Coloanele gaz cromatografice

Coloanele sunt inima oricărui cromatograf de gaze şi sediul separării respectiv al corectitudinii rezultatului analizei chimice. Iniţial au existat două tipuri de coloane: (A) cu umplutură şi (B) coloane capilare (fig. 9). Din anii 1990 a mai apărut un tip - coloanele *530µm* (*whide bore*) - care deşi nu mai sunt coloane capilare, în adevăratul sens al cuvântului, păstrează geometria şi tipurile de umplutură ale coloanelor capilare. Subiectul este deosebit de vast şi este tratat în cărţi de specialitate şi chiar detaliat pe Internet la adresa:

http://gc.discussing.info/gs/e_columns/stationary_phase.html#GasSolid

Coloanele cu umplutură -primele coloane cunoscute în GC - sunt confecţionate din tuburi (oţel, sticlă sau alte materiale), având diametre cuprinse între 2-8 mm - cel mai frecvent de 1/8 ţoli (3.18mm) sau ¼ ţoli (6.35mm) - şi conţin adsorbenţi, site moleculare sau un suport inert pe care se găseşte depus sau legat chimic un film subţire dintr-o fază staţionară. Raportul diametrelor coloanei şi umpluturii trebuie să fie cuprins între 25 şi 20. În ultimul timp au apărut şi coloane cu umplutură de 1/16 ţoli.

Umplutura coloanei constă dintr-o anumită fază staţionară - activă care se depune pe granulele umpluturii inerte şi poroase, în afara coloanei (după dizolvarea acesteia într-un solvent potrivit ales) prin amestecare urmând apoi evaporarea solventului într-o etuvă [108]. Doar apoi umplutura se introduce în coloană şi coloana se montează în cromatograf, prin intermediul unor racorduri filetate. Debitul gazului purtător la aceste coloane este cel mai mare, fiind cuprins între 10 şi 40mL·min^{-1}. Astfel de coloane sunt din ce în ce mai puţin utilizate.

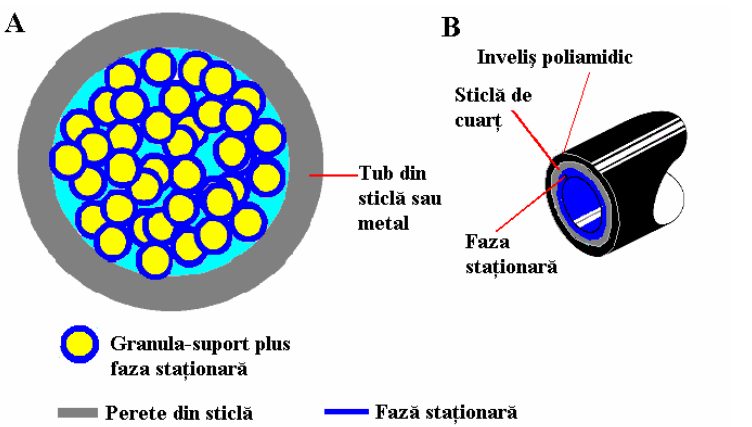


Fig. 9. Cele două tipuri de coloane, cu umputură - A şi capilare - B; coloanele 530 µm (wide bore) nu diferă ca geometrie de cele capilare

[108] În zilele noastre sunt disponibile comercial majoritatea coloanelor necesare în analizele de rutină.

Suportul poros (şi totodată inert) este format dintr-un material solid, elaborat industrial, de formă preferată sferică şi cu o granulaţie cât mai uniformă (de exemplu 60-80 mesh sau 80-100 mesh [109]). În raport cu suportul poros, faza staţionară constituie doar 3-25%. Cele mai răspândite sunt confecţionate din pământuri diatomitice (de ex. diversele tipuri de Chromosorb) dar multe sunt fabricate din silice (de ex. Spherosil). Acestea se modifică chimic prin silanizare pentru a deveni inerte.

Coloanele capilare sunt, la rândul lor, de cel puţin două tipuri: *cu fază staţionară depuse chiar pe peretele coloanei capilare* (*WCOT*) sau cu *faza staţionară depusă pe un suport solid, poros, aderent*, format în prealabil pe peretele acesteia (*SCOT*) [110]. Au diametre 0.1-0.35mm şi lungimi între 5-100m, separarea durând ceva mai mult decât la cele cu umplutură. Cu cât coloana este mai lungă durata analizei creşte. Coloanele capilare se confecţionează în ultimul timp mai ales din sticlă de cuarţ. În exterior acestea sunt îmbrăcate într-un polimer - poliamidă - pentru a rezista mai bine la şocuri mecanice respectiv la coroziune (în acelaşi scop se mai foloseşte aluminiul). Coloanele sunt bobinate pe suporturi metalice având o formă circulară (fig. 10).

Fig. 10. Bobină de coloană capilară în forma care se foloseşte în gaz-cromatograf

Coloanele WCOT conţin faza staţionară sub formă de film subţire în interiorul capilarei, grosimea acestuia variind între 0.05-5µm. Faza staţionară poate fi depusă fizic sau chiar legată chimic de grupele -OH ale silicei hidratate. Si aceste coloane sunt disponibile deja comercial pentru majoritatea aplicaţiilor curente. Eficacitatea unei astfel de coloane poate atinge 150mii talere teoretice. Înălţimea echivalentă a unui taler teoretic, H, în cazul acestor tipuri de coloane, are o expresie deosebită de ecuaţia lui Van Deemter şi a fost descoperită de Golay, anume:

$$H = \frac{B}{v} + (C_G + C_{L)} \cdot v \qquad (1)$$

[109] *mesh* - unitate anglosaxonă de granulaţie fiind numărul de ochiuri per inch pătrat.

[110] WCOT = **w**all **c**oated **o**pen **t**ubular (column) înseamnă coloană deschisă cu faza staţionară depusă pe perete SCOT = **s**upport **c**oated **o**pen **t**ubular (column) înseamnă coloană deschisă acoperită cu suport(prescurtări în l. engl.).

unde termenul A lipseşte iar C_G este coeficientul de difuzie al speciei moleculare separate în faza gazoasă, C_L, fiind acelaşi coeficient pentru faza lichidă. În acest caz H_{opt} se calculează cu ecuația dată în secțiunea *Metode cromatografice - privire de ansamblu*.

Coloanele 530µm sau *wide bore* sunt confecționate tot din silice (SiO_2) având lungimi cuprinse între 5-50m. Le-am putea denumi *coloane semicapilare* deoarece păstrează caracteristicile coloanelor capilare dar dimensiunile nu mai sunt apropiate de dimensiunea firelor de păr. Debitul prin aceste coloane atinge $15mL \cdot min^{-1}$ (adică intră în domeniul celor cu umplutură), dar au performanțe superioare acestora.

Fazele staționare sunt şi ele de mai multe feluri: polare, de exemplu polietilenglicoli, nepolare de exemplu cauciucuri siliconice, intermediare şi în sfârşit cele cu punți de hidrogen sau cele specifice (de exemplu cele destinate separării amestecurilor racemice). Fazele staționare sunt lichide sau solide. *Fazele staționare lichide* sunt formate din lichide nevolatile având o compoziție chimică foarte variată (peste 100 de tipuri). Pentru a se putea lega chimic numărul acestora a fost restrâns la cele care pot, prin sinteză, să ducă la un film grefat pe partea internă a coloanei. La ora actuală se pot distinge două tipuri de compuşi preferați: *polisiloxanii* şi *polietilenglicolii* fiecare într-o varietate care să permită modificarea polarității acestora. Formulele acestora sunt ilustrate pe fig. 11.

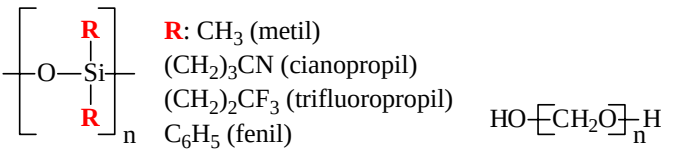


Fig. 11. Cele două tipuri principale de faze staționare lichide folosite pe scară largă în GC: siliconice -stânga şi polietilenglicolice - dreapta

Pentru separarea enantiomerilor (izomeri optici cu exact aceeaşi structură chimică) s-au impus recent fazele staționare formate din ciclodextrine. Toate aceste faze au o temperatură minimă şi una maximă de utilizare, deoarece în partea de jos a acestor limite, echilibrele care au loc la retenție sunt deranjate, iar la partea superioară are loc un început de degradare a fazei care deranjează detecția, respectiv uniformitatea separării.

Fazele staționare solide sunt constituite din diferiți adsorbenți: silicagel sau alumină (dezactivate cu săruri minerale), sticle poroase, sau polimeri poroşi iar în ultimul timp chiar carbon poros. Acestea au diferite denumiri comerciale: Site moleculare, Porapak®, Carbopak®, PoraPLOT® etc şi sunt folosite mai ales pentru separări de gaze permanente sau compuşi foarte volatili H_2O, hidrocarburi etc. Astfel de materiale se pot depune şi pe pereții

interiori ai coloanelor capilare - coloane denumite în literatura internațională *coloane PLOT* (adică coloane deschise cu suport poros = Porous Layer Open Tubular, l. engl.).

Analiza calitativă şi cantitativă în GC

Analiza calitativă

În GC analiza calitativă se poate realiza fie pe baza utilizării timpilor de retenție ajustați, t_R' fie pe baza volumelor de retenție ajustate, V_R' măsurate experimental în cazul probei necunoscute şi comparate cu valorile similare ale unor probe cunoscute. Deci pentru orice analiză calitativă este nevoie de substanța pură, lucru nu întotdeauna accesibil. De aceea cuplajul cu spectrometria de masă a depăşit acest neajuns, devenind una dintre cele mai bune tehnici de analiză calitativă.

În cazul LC eluentul, un lichid, este necompresibil şi în consecință, debitul acestuia nu se va modifica la începutul coloanei față de sfârşitul acesteia. În cazul CG, însă, presiunile inițială, p_i şi cea finală, p_f, fiind diferite, este necesară introducerea unei corecții a volumului de retenție măsurat, cu ajutorul unui factor, j, numit *factorul de corecție corespunzător căderii de presiune*. Acesta se poate calcula din ecuația dată în cele ce urmează, fără deducție:

$$j = \frac{3}{2} \cdot \frac{(p^2 - 1)}{(p^3 - 1)} \qquad (2)$$

în care cu p s-a simbolizat raportul presiunilor, inițială (p_i) respectiv finală (p_f), adică $p = p_i/p_f$. Cu ajutorul acestei mărimi semnale de retenție din diverse condiții experimentale se pot face comparabile în analiza calitativă prin CG.

Volumul de retenție corectat, V_R^0 definit prin produsul:

$$V_R^0 = j \cdot V_R \qquad (3)$$

unde j este factorul de corecție de mai sus iar V_R - volumul de retenție.

Volumul de retenție net, V_N, este *volumul de retenție ajustat* dar corectat şi pentru căderea de presiune:

$$V_N = j \cdot V_R' \qquad (4)$$

Aceste volume sunt utilizate cu precădere în analiza calitativă fiind mai sigure decât volumul de retenție simplu mai ales când nu se mai recurge la alte tehnici [111].

Volumul de retenție specific, V_g. Prin mărirea cantității de fază lichidă staționară, fie prin utilizarea unei cantități (grosimi) mai mari fie prin utilizarea unei coloane mai lungi, creşte volumul de retenție. Pentru a se lua în considerare şi acest factor se definește *volumul de retenție specific* (exprimat de regulă în mL/g) cu ecuația de definiție:

$$V_g = 273 V_N/(T_c m_L) \qquad (5)$$

[111] Amintim că se practică, pentru o mai mare siguranță, cuplajul GC cu spectrometria de masă.

unde T_c este temperatura absolută a coloanei, V_N - volumul de retenție net al componentului și m_L - masa fazei staționare lichide din coloană.

Dar pentru că toți acești parametri depind, în mare măsură, de o serie de condiții experimentale ca temperatura, debitul gazului purtător, cantitatea de fază lichidă etc, pentru identificarea substanțelor se recurge în ultimul timp la utilizarea *indicilor de retenție Kováts*. Acești indici, notați în continuare cu *I*, sunt practic independenți de factorii amintiți. Astfel, pentru orice substanță de analizat calitativ se caută o pereche de n-alcani care dau picuri situate ca timp de retenție unul înainte, altul după substanța amintită. Din cele trei valori t_R' măsurate se calculează valorile *I. Indicii de retenție Kováts exprimă retenția relativă a unei substanțe oarecare, fie cunoscută, fie necunoscută, raportată la cea a unor alcani normali, luați drept substanțe de referință (sau etalon)*. Formula de calcul, propusă de autorul metodei, pentru indicii amintiți este:

$$I = 100\frac{\log t'_{R,X} - \log t'_{R,n}}{\log t'_{R,n+1} - \log t'_{R,n}} + 100n \qquad (6)$$

unde $t_{R,X}'$, $t_{R,n}'$ și $t_{R,n+1}'$ sunt timpii de retenție ajustați pentru substanța necunoscută X respectiv alcanii cu n respectiv n+1 atomi de carbon. Valoarea n se alege astfel ca $t_{R,n}' < t_{R,X}' < t_{R,n+1}'$ adică, în așa fel ca timpul de retenție al substanței necunoscute să fie cuprins între timpii de retenție ai celor doi alcani. De exemplu, benzenul are timpul de retenție cuprins între cel al n-hexanului și al n-heptanului (ca și cum ar avea cam 6,5 atomi de carbon). Schimbând condițiile experimentale se schimbă t_R', respectiv V_R', dar niciodată valoarea indicilor de retenție I. Metoda se bazează pe faptul că practic nu există substanță chimică separată prin GC căreia să nu i se poată asocia o pereche de n-alcani care au timpul de retenție, unul mai mare și altul mai mic decât substanța respectivă. Pentru seria omoloagă a alcanilor este respectată ecuația:

$$\log(t_R') = a \cdot n + b \qquad (7)$$

unde a și b sunt niște constante numerice găsite pe cale experimentală, care sunt aceleași pentru o coloană și condiții fizico-chimice date. Se observă că în formula valorii I, termenul b se va reduce și factorul a se va simplifică. Astfel, indicele Kováts, I, va depinde doar de numărul aparent de atomi de carbon ai substanței respective - constant.

Experimental se procedează astfel: după câteva încercări preliminare se injectează împreună cei doi alcani, cu C_n respectiv C_{n+1} împreună cu substanța de analizat, X iar după măsurarea pe cromatogramă a valorilor t_R' pentru toate trei picurile componentelor amestecului, prin înlocuirea acestora în formula precedentă sau pe cale grafică, se obține indicele Kovats, I (v. fig. 12).

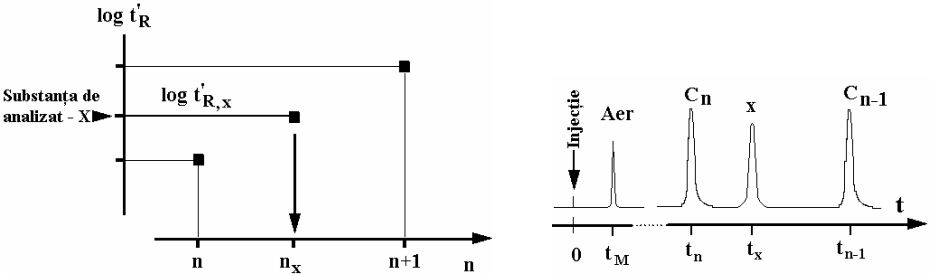


Fig. 12. Calculul grafic al indicelui Kováts ($I = 100 \cdot n_x$)

Analiza cantitativă

În anumite condiții (pe porțiuni liniare ale răspunsului detectorului, condiții experimentale identice etc.), *suprafața dintre linia de bază şi curba picului cromatografic - semnalul analitic - este proporțională cu cantitatea de component injectată*. Deci, pe domeniul liniar al detectorului, oricare ar fi acesta, există relația:

Masa injectată = K·(Aria picului)

unde K este o constantă numerică. Această proprietate poate servi pentru construirea unei *curbe de etalonare* fiind general valabilă atât în cazul GC cât şi în celelalte tehnici cromatografice. Se poate şi aici aplica *metoda adausului standard*, mai ales la domenii liniare largi. Pentru valori t_R' mici, când picurile sunt şi ascuțite şi înguste, se poate utiliza în locul ariei înălțimea sa - cu rezerva unei pierderi din precizia determinării. Amintim în cele ce urmează câteva practici de bază legate de analiza cantitativă folosind ariile picurilor.

Metoda factorului de răspuns

Când se dovedeşte că detectorul răspunde la fel de bine pentru fiecare component al amestecului, aria relativă a picurilor este proporțională cu cantitatea diverselor componente. Această condiție este îndeplinită extrem de rar. De exemplu, sensibilitatea detectorului bazat pe conductibilitatea termică a gazelor depinde de natura substanțelor iar a celui bazat pe ionizarea în flacără are răspunsul dependent de numărul de atomi de carbon din moleculă. Pentru aceste cazuri *este necesar ca toți componenții analizați să aibă determinați în prealabil câte un factor de răspuns*, F. Factorii de răspuns se obțin cu ajutorul formulei:

$$F = \frac{C_X/C_S}{A_X/A_S} \qquad (8)$$

unde cu C_X şi C_S s-au notat concentrațiile componentelor X respectiv a substanței etalon (standard), S, iar A_X şi A_S sunt ariile picurilor corespunzătoare acestora. Semnificația fizică a factorului de răspuns este aceea că indică de câte ori este mai mare raportul concentrație per semnal analitic în cazul unui component al probei față de etalonul ales.

Metoda standardului (etalonului) intern

De multe ori apar fluctuații neașteptate în condițiile experimentale de la o probă la alta. Pentru evitarea surprizelor de acest gen (și a erorilor aferente analizelor) se utilizează, analog cu alte metode instrumentale, un *standard intern*, diferit de substanța de analizat. Acesta este o substanță pură cunoscută, introdusă intenționat în amestecul care constituie proba, și totodată aflată pe cromatogramă în vecinătatea componentelor de analizat, *de fiecare dată în aceeași cantitate*. Motivul introducerii este tocmai acela că raportul dintre ariile unui pic oarecare și standardul intern este constant, indiferent de debitul gazului sau al altor perturbații ușoare ale condițiilor experimentale, tocmai datorită asemănării fizice dintre substanța etalon și probă. Analitic, concentrația necunoscută se calculează, în acest caz, în funcție de standardul intern (pentru deducție vezi Anexa) și proba cunoscută:

$$C_{X,N} = \frac{A_{X,N}}{A_{X,S}} \cdot \frac{A_{SI,S}}{A_{SI,N}} \cdot C_{X,S} \qquad (9)$$

unde $C_{X,N}$ este concentrația substanței X în proba de analizat (necunoscută), $C_{X,S}$ - concentrația substanței X, ce urmează a fi analizată, în proba etalon (cunoscută), $A_{X,N}$ - aria piculuisubstanței X în proba de analizat, $A_{SI,N}$ - aria picului corespunzătoare standardului intern din proba necunoscută, $A_{SI,S}$ - aria picului standardului intern în proba etalon.

Se observă că raportul $A_{SI,N}$ /$A_{SI,S}$, apropiat de unu, corectează micile abateri care apar la analiza probei necunoscute în timpul cromatografierii, în raport cu proba cunoscută, de concentrație $C_{X,S}$ (denumită probă etalon și executată pe o altă cromatogramă, separat). Ariile ce intervin în raportul amintit se referă la aceeași cantitate din aceeași substanță - standardul intern - conținută atât în proba necunoscută cât și în cea cunoscută.

Determinarea ariei picurilor

Determinarea ariei picurilor i.e. *semnalul analitic al metodei* - se poate realiza prin mai multe procedee, multe dintre acestea mai mult de importanță istorică:

1. Metoda triangulației bazată pe aproximarea picului cu un triunghi și calcularea ariei prin înmulțirea lățimii picului la jumătate din înălțimea sa, $w_{1/2,}$ cu înălțimea acestuia, h (picul se consideră gaussian).
2. Metoda planimetrării, se bazează pe măsurarea ariei propriu zise.
3. Metoda integratorului - utilizează un aparat, numit integrator, ce dă un semnal proporțional cu aria de sub pic.

Întrebări de verificare

4. Ce părți ale cromatografului se găsesc în etuva termostat?
5. Cu ce dispozitive se poate introduce proba într-un cromatograf de gaze?
6. Ce este un septum şi unde se găseşte acesta în GC?
7. Denumiți doi dintre cei mai utilizați detectori în GC.
8. Pe ce principiu funcționează catarometrul?
9. Ce componente nu pot fi analizate prin FID?
10. Care sunt mărimile preferate în analiza calitativă prin GC?
11. Ce carburant alimentează flacăra din detectorul cu ionizare în flacără?
12. La ce componente este cel mai sensibil detectorul cu fotoionizare?
13. Pe ce principiu funcționează detectorul cu captură de electroni? Cine provoacă în acest caz ionizarea componentelor separate?
14. De câte tipuri sunt coloanele gaz cromatografice?
15. Care sunt cele mai importante faze staționare solide?
16. Care sunt cele mai importante clase de faze staționare lichide?
17. Ce este ecuația lui Van Deemter şi la ce servește?
18. De ce s-a introdus indicele de retenție Kovacs pentru analiza calitativă?
19. Ce este factorul de răspuns în cromatografia de gaze?

Este uşor să inventezi lucruri uimitoare;
dificultatea constă în a le perfecționa pentru a le da o valoare comercială
T. A. Edison (1847-1931)

Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC)

Introducere

Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC [112]) acoperă azi, în proporție aproximativ 80%, analiza substanțelor moleculare: organice, organo-metalice şi anorganice inclusiv compuşii foarte polari sau labili termic precum şi compuşii cu masă moleculară ridicată (naturali sau sintetici). De aceea, împreună cu cromatografia de gaze constituie un punct de sprijin important în analizele chimice moderne. Deşi eficacitatea coloanelor nu o egalează încă pe cea din GC, prin faptul că se poate modifica, pe lângă faza staționară, şi faza mobilă, cromatografia de lichide (LC) face posibile separări şi analize uneori imposibil de realizat prin alte tehnici. Cuplajul cu spectrometria de masă a transformat, în ultimul timp, această metodă în *principalul mijloc de analiza a compuşilor moleculari naturali sau sintetici***,** constituind unul din pilonii pe care se sprijină chimia sintetică actuală şi pe care s-a dezvoltat biochimia şi biotehnologia modernă.

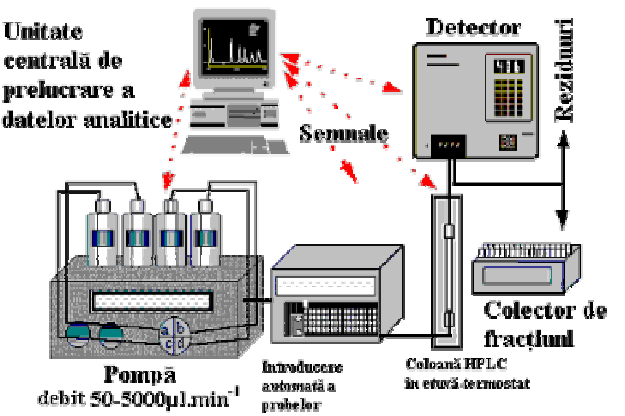


Fig. 1. Prezentarea schematică a unui cromatograf de lichide (HPLC) modern

Metoda constituie o evoluție a unei metode mai vechi, cromatografia pe coloană clasică, care servea în primul rând la izolarea preparativă a compuşilor naturali. Prin introducerea pompelor şi în consecință, lucrându-se la presiuni tot mai ridicate (200atm), dezvoltarea unor faze staționare performante, de dimensiuni tot mai mici (recent constituite din granule de faze staționare sferice, cu diametre 2-5µm), în coloane tot mai scurte (3-10cm) s-a ajuns, începând cu anul 1969, la configurația actuală (fig. 1). Se poate observa că din

[112] HPLC este prescultarea denumirii internaționale: High Performance Liquid Chromatography (l. engl.)

rezervoarele conținând unul sau mai mulți solvenți pompa (sau pompele), alimentează coloana cu eluent (de regulă un amestec de doi sau mai mulți solvenți). În imediata vecinătate a coloanei se introduce proba, automat, prin intermediul unui ventil cu *by pass* [113]. În coloana aflată într-o etuvă termostat, are loc separarea propriu-zisă. Efluentul coloanei intră într-un detector de unde componentul, dacă este separat complet, poate fi colectat și izolat, cu ajutorul unui colector de fracțiuni. Semnalul este înregistrat fie cu un înregistrator, fie direct în memoria unui calculator. În esență, un cromatograf analitic HPLC are structura din fig. 2 unde nu s-a mai prezentat colectorul de fracțiuni, interesant doar din punct de vedere preparativ. Se poate observa asemănarea cu GC singura deosebire majoră constituind-o sursa de eluent - pompa. În cele ce urmează se vor prezenta cele mai importante aspecte deoarece volumul de informații publicate este deosebit de amplu, un mare număr de date existând chiar pe rețeaua Internet [114].

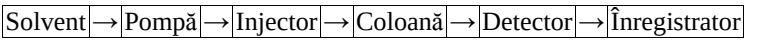


Fig. 2. Schema bloc a unui cromatograf HPLC

[113] Este vorba de un ventil cu 6 căi prevăzut cu o buclă cu volum cunoscut
[114] http://hplc.chem.shu.edu/NEW/HPLC_Book/index.html

Pompe pentru HPLC

Pompa este considerată una dintre cele mai importante componente ale HPLC deoarece permite realizarea *unui debit constant al eluentului prin întreg sistemul*: injector, coloană, detector mărind deosebit de mult viteza separării. Într-un cromatograf de lichide pot exista una sau mai multe pompe, fiecare furnizând o presiune care poate atinge 20mii kPa (cca. 200atm). Presiunea deosebită este necesară deoarece coloana are o umplutură de finețe mare și, în lipsa presiunii, debitul ar fi nepractic de mic.

Există în uz două tipuri principale de pompe, clasificate astfel în funcție de debit: *pompe cu presiune constantă* (și debit variabil) și *pompe cu debit constant*.

Pompele cu presiune constantă sunt mai simple (a se citi ieftine) și nu prezintă pulsații în funcționare (care nu ar permite obținerea unei linii de bază netede). Acestea, prezintă dezavantajul că debitul trebuie frecvent modificat pentru a se menține cât mai constant, ceea ce la separări de durată pune probleme, deoarece prin obturarea coloanelor debitul se modifică continuu. Se înțelege că orice modificare de debit (datorită viscozității sau temperaturii eluentului și a structurii umpluturii) afectează timpul de retenție și totodată semnalul detectorilor, în majoritate sensibili la concentrație.

Pompele cu debit constant nu mai prezintă dezavantajele de mai sus. De-a lungul timpului s-au selecționat două variante: *pompele cu piston* (alternative) și *pompele de tip seringă* (cu deplasare pozitivă). La primele, cele mai utilizate, mișcarea du-te-vino a pistoanelor și a supapelor cu bilă permit o funcționare indefinită dar presupun existența unor *atenuatoare de pulsații* - dispozitive care să elimine micile variații de debit. Acestea constau dintr-o alternanță de mai multe rezistențe, de exemplu tuburi subțiri și capacități - care pot fi incinte cu pereți elastici, fie chiar manometre.

Pompele cu presiune constantă, asemănătoare cu o seringă dar având o capacitate mai mare, pompează continuu pe toată durata separării, pistonul deplasându-se cu o viteză liniară constantă dar după fiecare cursă este necesară oprirea debitului și reumplerea cu solvent a corpului pompei.

Deși solvenții utilizați se degazează pentru a se reduce efectele corozive ale oxigenului, datorită presiunilor ridicate la care se lucrează, coroziunea este totuși deosebită. De aceea aceste pompe (corpul, cilindrii, garniturile și supapele) se execută din materiale rezistente la coroziune: safir, agat, teflon sau aliaje speciale.

Sisteme de introducere a probei

În cazul HPLC injecția probei trebuie făcută într-un timp cât mai scurt, pentru a nu deranja regimul dinamic al eluentului prin coloană şi detector. Dificultatea provine de la presiunea ridicată la care lucrează coloana (20mii kPa). Sistemul cel mai utilizat în cromatografele de lichide este *ventilul cu 6 căi*, numit şi *ventil de introducere a probei*, prevăzut cu bucle interschimbabile (fig. 3).

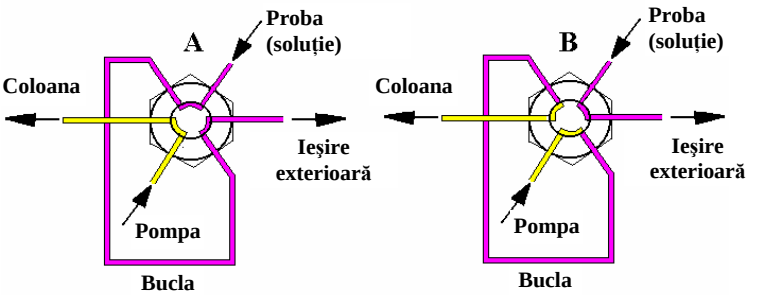


Fig. 3. Ventilul pentru introducerea probei (cu 6 căi); lucrează în două etape: A - alimentarea buclei cu proba; B - după o rotire cu 60° în sensul acelor de ceasornic, antrenarea probei din buclă în coloană

Deoarece eluentul aderă la pereți, pentru completa îndepărtare a sa în momentul alimentării buclei cu probă, este necesară injectarea prin buclă a unui volum de cel puțin de trei ori volumul acesteia, înainte de comutarea pe analiză. Bucla lucrează în două etape. Etapa A (fig. 3-A) în care bucla este umplută cu probă cu ajutorul unei seringi sau în alt mod. Apoi are loc comutarea pe analiză (fig. 3-B) când prin rotire cu 60°, în direcția acelor de ceasornic, manual sau automat, bucla este parcursă de eluentul de la pompă şi conținutul acesteia este antrenat în coloană. Volumul probelor pentru coloane obişnuite (25cmx4.6mm) este de 10-50µl.

Evident aceste ventile sunt confecționate din materiale rezistente la coroziune şi la solvenți (oțel inoxidabil, tantal, teflon etc).

Coloanele în LC

Locul în care se petrece separarea propriu-zisă și - în funcție de calitatea acesteia - se mărește sau micșorează raportul semnal/zgomot, este coloana cromatografică. Deși mulți autori denumesc *coloana* "piesa cea mai importantă" dintr-un cromatograf, acesta din urmă, fiind format dintr-o serie de componente, rezultă că fiecare compartiment în parte, contribuie separat la obținerea rezultatului analitic. Pentru un practician din domeniul LC însă, locul unde acesta intervine efectiv și unde se concepe logic separarea este într-adevăr coloana.

Corpul coloanei și mecanisme de separare

Materialul din care se confecționează *corpul coloanei* în LC trebuie să asigure acesteia rezistența mecanică adecvată presiunilor înalte (20mii kPa) precum și rezistența la coroziune față de faza mobilă. În majoritatea cazurilor a fost preferat oțelul inoxidabil 316 lucios. Acesta rezistă la majoritatea solvenților, excepție făcând doar sărurile halogenilor, în special în soluție puternic acidă. Alte alternative o constituie coloanele compozite: sticlă sau plastic în interior - oțel inoxidabil sau material plastic în exterior.

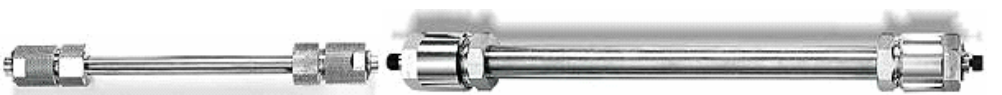


Fig. 4. Aspectul coloanelor din LC: coloană analitică (stânga), semipreparativă (dreapta)

Din punctul de vedere al geometriei (fig. 4), aceste coloane sunt cilindrice, iar dimensiunile depind, în primul rând, de dimensiunea granulelor și porozitatea umpluturii. Astfel diametrul coloanelor variază între 0.3-5cm iar lungimea poate fi între 3-25cm. Pentru scopuri preparative, în cazul unor componente necunoscute, se utilizează chiar diametre mai mari.

Cu cât umplutura este mai fină, cu atât coloana este mai scurtă. Pentru a se reține eventualele impurități sau componenți care nu pot părăsi coloana (fiind reținuți practic ireversibil) se folosesc adesea *precoloane* care, fiind de dimensiuni mai mici (același diametru și lungimi de 0.4-1cm), pot fi înlocuite mai des, evitându-se astfel scoaterea prematură din funcție a coloanei principale. Pentru a nu fi antrenată faza staționară în afara coloanei, aceasta este blocată la capete de două discuri metalice, poroase, având diametrul porilor între 0.5-10μm. De asemenea pentru a nu se lărgi prea mult prin coloană zona cromatografică (cu diluarea ce are loc simultan), tot volumul mort ale acesteia (goluri în coloană, tubul de aducțiune de la injector, tubul de evacuare spre detector) trebuie redus la minim.

Se cunosc până în prezent mai multe *mecanisme de separare* prin coloane, care depind mult de fazele mobilă și staționară. Mai exact, depind de natura fenomenului fizico-chimic pe

care se bazează retenția diferențiată și separarea. Metodele LC (HPLC) se pot clasifica, după mecanismele principale amintite, astfel:

÷ cromatografie de adsorbție,

÷ cromatografie de repartiție,

÷ cromatografie ionică,

÷ cromatografie de excluziune sterică.

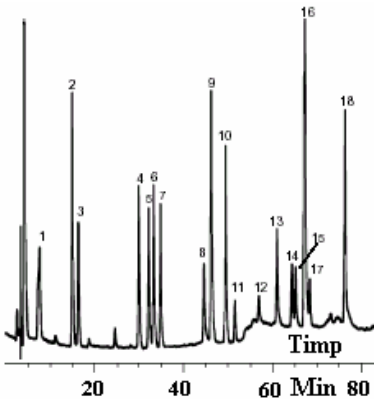
Fiecare dintre aceste variante este preferată în cazul unor grupuri de substanțe, asemănătoare structural (vezi fig. 7), neexistând din păcate un mecanism universal.

Se disting două moduri de realizare a cromatografiei de repartiție:

÷ Cromatografie de repartiție *directă* (sau cu faze normale - clasică);

÷ Cromatografia de repartiție *cu faze inversate* - metoda preferată în zilele noastre - pe care se realizează cele mai numeroase separări.

În primul caz faza staționară este formată *dintr-un lichid polar iar faza mobilă dintr-un solvent organic nepolar* iar în al doilea, situația se inversează: *lichidul imobil este nepolar iar faza mobilă este un amestec de solvenți polari*. De exemplu, una dintre cele mai răspândite faze inversate este cea staționară - silicagel, iar cea mobilă - un amestec apă, metanol, acrilonitril (sau tetrahidrofuran). O separare reușită pe o astfel de fază este prezentată în fig. 5.



1. Izoproturon
2. Profam
3. Propazin
4. Terbutilazină
5. Linuron
6. Propanil
7. Prometrin
8. Fenamifos
9. Fenitrotion
10. Cafeină
11. Metamitron
12. Fenuron
13. Metoxuron
14. Simazin
15. Bromacil
16. Cianazin
17. Atrazin
18. Carbaril

- Coloană: Supelcosil (SiO_2) LC-ABZ, 25x4,6cm;
- Granulația: 5µm, t = 40°C;
- Eluent: 10 până la 90% acetonitril în apă 0.5%/min;
- Detector: UV la 225nm;
- Debit: 1mL·min^{-1};

Fig. 5. Separarea unor pesticide prin HPLC

Cromatografia ionică (IC) are mai multe variante. Cea mai frecvent întâlnită astăzi folosește în calitate de fază mobilă solvenți apoși diluați de electroliți iar ca fază staționară schimbători de ioni. Metoda va fi descrisă într-un capitol separat datorită implicațiilor actuale în analizele de ape legate de protecția mediului. O altă variantă denumită *cromatografie prin perechi de ioni* folosește faze staționare capabile să fixeze anumiți ioni care fixează ioni de semn contrar (perechi de ioni). Acest mecanism se preferă în cazul substanțelor ionice sau ionizabile.

În fine, mai există *cromatografia de afinitate*, o variantă considerată uneori un mecanism separat, se bazează pe afinitatea extrem de specifică a unor molecule cu alte molecule fixate pe suport. Deși este vorba de interacțiuni coordinative sau alte *afinități* de natură biochimică dintre suport și componentele de separat mecanismul poate fi asemănat cu adsorbția sau chiar cu schimbul ionic dar mult mai specific.

Suportul este materialul pe care ligandul este fixat (ideal este ca acesta să fie rigid, stabil și să aibă o suprafață mare). De exemplu agarul este cel mai cunoscut suport, de asemenea se mai folosește celuloza, dextranul și poliacrilamida. Ligandul este fixat pe gelul de agaroză fiind un polimer al D-galactozei și al 3,6-anhidro-L-galactozei și poate fi folosit la o presiune de 1atm și într-un interval de pH de la 4 la 9.

Avându-se în vedere complexitatea problemei și diversitatea acestor perechi de faze mobile și staționare, vom limita în cele ce urmează discuția doar la cele mai utilizate dintre acestea pentru domeniul analizei poluanților mediului. În funcție de componentele de separat și tipul de mecanism preferat, faza mobilă se alege folosind schema din fig. 6.

<table>
<tr><th></th><th>Masă moleculară</th><th>Solubilă în</th><th>Caracter</th><th>Cromatografie</th></tr>
<tr><td rowspan="6">Proba</td><td rowspan="4"><2000</td><td rowspan="2">Apă</td><td rowspan="2">Ionică</td><td>ionică (IC)</td></tr>
<tr><td>cu perechi de ioni</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Neionică</td><td rowspan="3">• cu fază inversă
• cu fază polară legată
• lichid-solid (CLS)
• excluziune sterică</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Solvenți organici</td><td>Polară</td></tr>
<tr><td>Nepolară</td><td>• CLS
• IC
• excluziune sterică</td></tr>
<tr><td rowspan="3">> 2000</td><td>Apă</td><td>-</td><td>Excluziune sterică</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Solvenți organici</td><td rowspan="2">-</td><td>Schimb ionic</td></tr>
<tr><td>Interacțiuni hidrofobe</td></tr>
</table>

Fig. 6. Tipurile de mecanisme de separare cunoscute în LC

Faza staționară

Silicagelul (SiO_2) este considerat materialul cel mai important utilizat ca fază staționară. Acesta a devenit, în ultimii 20 de ani, doar suportul adevăratelor faze - fazele chimic legate - ceea ce nu schimbă importanța sa. Silicagelul s-a obținut la început în formă granulară, neregulată, apoi în formă sferică (fig. 7).

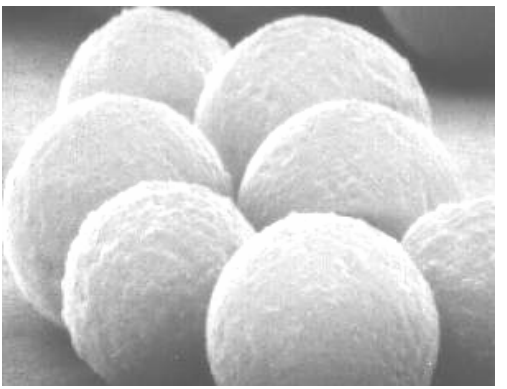


Fig. 7. Aspectul granulelor de silicagel folosite frecvent la umplerea coloanelor din HPLC

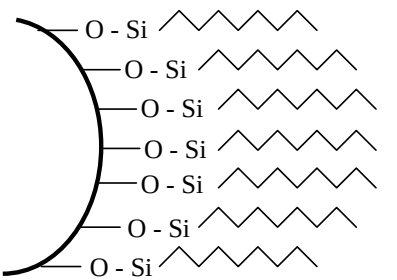


Fig. 8. Aspectul schematic al unei granule sferice cu fază staționară chimic legată pe suprafața suportului

Indiferent de formă, granulația trebuie să fie uniformă (se elimină partea fină) pentru că astfel caracteristicile curgerii eluentului sunt mult îmbunătățite.

Obținerea *silicagelului sferic* se face plecând de la soluții conținând silicat de sodiu dar și alți compuși hidrolizabili ai siliciului (tetraclorură de siliciu, silicat de etil etc.). De la aceștia, printr-o reacție cu apa urmată de o pulverizare și apoi de o sinterizare, procese vizibile pe fig. 9, se obțin granule cu aspect sferic.

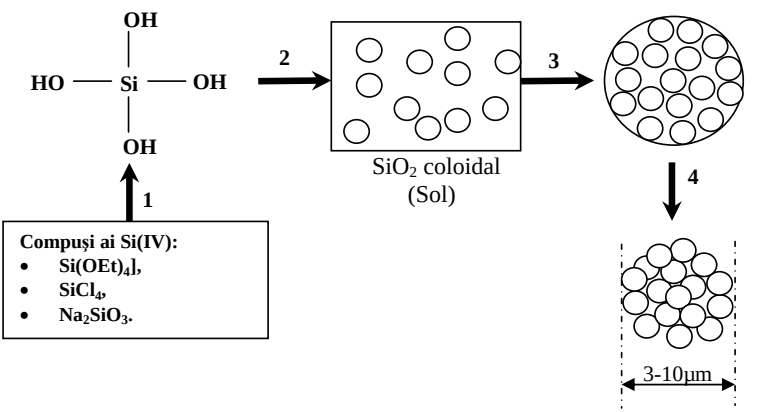


Fig. 9. Schema procesului de obținere a silicagelului cu granule sferice

Puritatea sa avansată este o condiție a bunei funcționări a materialului în LC deoarece prezența unor ioni metalici modifică structura determinând apariția unor centre de adsorbție

puternice și de aici apariția unor *cozi* ale picurilor. Silicagelul are o structură tridimensională cu o rețea de bază, tridimensională, formată din legături Si-O-Si iar pe suprafața porilor sau cea exterioară mai prezintă grupe silanol, ≡Si-OH. Punțile de oxigen apar între atomii de siliciu cu ocazia polimerizării acidului silicic, $Si(OH)_4$.

În ultimul timp a mai apărut un tip de fază staționară cu performanțe ridicate. Este vorba de *coloanele monolit*, realizate din aceleași materii prime și printr-o tehnologie asemănătoare din punct de vedere chimic cu cea din fig. 9. Coloana este formată direct în tubul rigid (metalic), de unde și numele. Aceasta nu mai are granule după cum se poate observa din fig 10. Prin noua tehnologie, s-au obținut coloane cu performanțe superioare față de cele umplute cu granule.

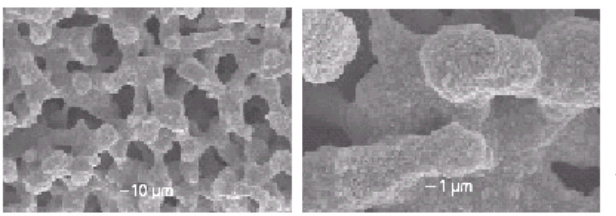


Fig. 10. Aspectul la microscopul electronic al coloanelor monolit

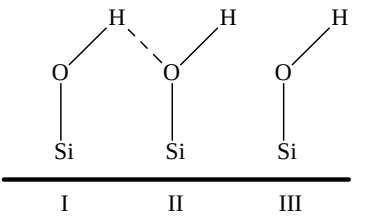


Fig. 11. Principalele tipuri de grupări silanolice superficiale

Există trei tipuri de *grupe silanol superficiale* I- legate, II- reactive și III- libere (v. fig. 11) cu tăria relativă I < III < II. În funcție de tehnologia de obținere diferă și porozitatea internă, suprafața specifică, rezistența la compresiune și polaritatea. Silicagelul este considerat, în general, un material puternic polar.

Grupele funcționale de pe suprafață au un caracter acid (pK_a pentru grupele silanol este similar fenolului). Pentru a se reduce cozile picurilor pe care le dau centrele de adsorbție puternice, silicagelul se poate dezactiva, de exemplu prin adaos controlat de apă (3-8% apă). Câteva mărci de silicagel comercial sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2. Câteva dintre cele mai cunoscute tipuri de silicagel pentru HPLC

Marca	Diametrul porilor	Suprafața specifică	pH-ul în suspensie 10%	Tipul particulelor
Zorbax 300	30	39	5.4	Sferice
Vydac TP	32	82	4.1	Sferice
Hypersil	12.5	149	8.2	Sferice
Spherisorb	8	190	7	Sferice
Polysil	6	245	6.5	Neregulate
LiChrosorb	10	297	6.7	Neregulate
Rosil	8	357	8.4	Sferice
Rsil	6	433	8.0	Neregulate

Se poate observa că suprafața specifică scade cu creşterea diametrului porilor iar pH-ul acestora se situează în domeniul 5.4-8.4.

Alți adsorbenți mult mai puțin utilizați sunt alumina, oxidul de zirconiu, cărbunele macroporos, polimerii poroşi (de ex. spuma poliuretanică).

Fazele staționare chimic legate au apărut în urma încercărilor mai puțin eficace de utilizare a unor faze staționare lichide depuse pe un suport poros solid - permeabil pentru eluent (a fost preferat *kieselgur-ul* sau pământul diatomitic - în esență tot SiO_2 dar cu pori mari şi o suprafață mult mai mică.

Deoarece în toate aceste încercări faza staționară era spălată de pe suport de către eluentul în mişcare şi în felul acesta deranja funcționarea detectorului, s-a recurs la soluția creării unor faze care să fie fixate prin legături chimice - mult mai puternice decât cele fizice. Aspectul unei faze staționare chimic legate poate fi imaginat ca în fig. 8, adică catenele legate alcătuiesc o adevărată *pădure* de molecule care se comportă fizic asemănător unui strat subțire, aderent la suport (imposibil de dizolvat) dar cu o valoare a *factorului de capacitate* k mai favorabilă.

Dacă grupările silanol ≡Si-OH de pe suprafața silicagelului sunt puse în situația de a reacționa cu anumiți derivați organometalici, se poate realiza sinteza unor *faze chimic legate*. Cele mai stabile legături sunt cele care au la bază apariția structurilor legate prin intermediul unei punți: ≡Si-O-Si≡. Obținerea acestora se realizează prin reacții de condensare [115] la care participă grupele silanol - superficiale, efectuate în prezența unor clorsilani. Un exemplu este reacția:

$$\equiv SiOH + ClSi(CH_3)_2R \xrightarrow{-HCl} \equiv Si\text{-}O\text{-}Si(CH_3)_2\text{-}R$$

unde cel mai frecvent R = C_8H_{17} sau $C_{18}H_{37}$. Prin astfel de reacții (astăzi se cunosc mai multe variante) suprafața silicagelului se acoperă cu un strat monomolecular de dimetil-alchil-siloxan nepolar. Pentru se mări şi mai mult stabilitatea s-a recurs la soluția legării radicalului de hidrocarbură R prin intermediul mai multor legături cu suprafața silicagelului.

Stratul de hidrocarbură grefat de suport se comportă ca un strat foarte subțire, uniform, de lichid nepolar dar mult mai stabil. Aceste faze stau la baza cromatografiei cu faze inversate. Polaritatea acestor faze se poate regla prin legarea în cadrul unor catene laterale ale radicalului de hidrocarbură R, de exemplu a unor funcțiuni aminopropil, cianopropil, benzil, creându-se astfel o mare diversitate de faze staționare.

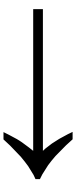
[115] Prin *reacții de condensare* se înțeleg procesele prin care se leagă două molecule mai mari, eliminându-se o moleculă mică (HCl).

Faza mobilă

Faza mobilă sau *eluentul* în LC nu reprezintă un mediu inert ca gazul purtător din GC. De aceea *alegerea fazei mobile se face aici în perfectă concordanță cu faza staționară*. Astfel faza mobilă diferă destul de mult în funcție de tipul interacțiunilor componentelor separate cu faza staționară din coloană. Singurele *caracteristici generale* sunt următoarele: (1) faza mobilă trebuie să aibă o viscozitate coborâtă, (2) aceasta trebuie să dizolve bine componentele, (3) nu trebuie să afecteze funcționarea coloanei şi (4) trebuie să permită funcționarea detectorului.

Unii eluenți provoacă migrarea unui anumit component mai repede prin coloană. Se spune că aceştia au o *tărie relativă* mai mare sau, altfel spus, au o putere de eluție mai ridicată. Această denumire provine de la faptul că factorul de capacitate, k, este mai mare şi de aceea componentul migrează mai repede. Dar totul depinde de trio-ul component - fază mobilă - fază staționară. Astfel, pe o fază staționară polară, folosind o fază mobilă nepolară, se vorbeşte de cromatografie de repartiție normală (sau *cu faze directe*). Din contră, pe o fază staționară nepolară utilizându-se o fază mobilă polară se vorbeşte de cromatografie de repartiție cu *faze inverse* (sau inversate). În acest ultim caz au devenit uzuale fazele mobile formate din amestecuri metanol - apă care în cromatografia de repartiție sunt considerate printre fazele mobile mai puțin tari.

Tabelul 3. Câteva faze mobile (monocomponente) utilizate în cromatografia de repartiție în ordinea tăriei lor relative în LC de repartiție cu faze normale

Faze normale	**Solvenți**	**Faze inversate**
	Hexan Benzen Triclormetan ***Clorură de metilen*** Eter etilic Acetat de etil Acetonitril Metanol Apă	

Pe o fază staționară polară, amestecul metanol-apă face parte dintre cei mai tari eluenți cunoscuți. În tabelul 3 se prezintă câțiva dintre cei mai întâlniți solvenți şi ordinea în care creşte tăria lor relativă, în cele două tipuri de cromatografie de repartiție.

În cromatografia ionică (IC) se folosesc soluții diluate de electroliți ca: NaOH, $NaHCO_3$, HCl, iar în cea de excluziune sterică solvenți simpli - evident compatibili cu polimerii, separați unii de alții după dimensiuni.

O altă cale de îmbunătățire a separărilor existentă în LC (cale inexistentă în GC) este *folosirea gradienților de eluție*. De exemplu, în GC, prin modificarea eluentului gazos nu se

constată nici o îmbunătățire a calității separării, în sensul măririi selectivității. În HPLC, din contră, solventul are o contribuție importantă în procesul de separare, dar nu trebuie neglijată importanța decisivă a cuplului fază mobilă - fază staționară. Deşi unii compuşi sunt reținuți slab prin coloană, ieşind destul de repede, *cei reținuți puternic ies din coloană după un timp câteodată nepractic de lung*, lucru care determină diluarea în eluent a componentul în urma parcurgerii coloanei, aceasta micşorându-se calitatea analizei. De aceea s-a recurs la introducerea treptată peste primul solvent (eluent), a unui al doilea solvent mai tare sau a celui de-al treilea, ceea ce în limbajul de specialitate se numeşte gradient de eluție (sau de concentrație).

La ora actuală soluția la care s-a recurs în practică constă, în general, dintr-un sistem de ventile electromagnetice care permite intrarea solvenților în aceeaşi pompă, prin intermediul unei camere de amestecare aflate la joasă presiune.

Este posibil şi un alt montaj în care fiecare solvent are pompa proprie, comandată de un dispozitiv de control al debitului. Aceşti solvenți intră în camera de amestec şi de aici în coloană.

Gradienții de fază mobilă pot fi foarte diferiți în practică dar formele principale sunt cele descrise în fig. 12.

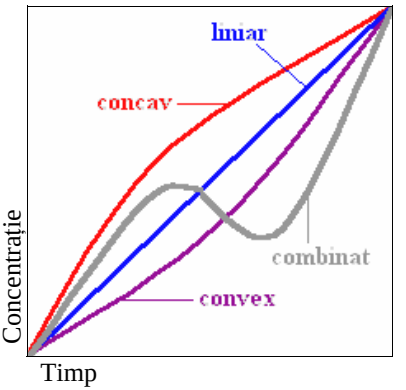


Fig. 12. Câteva din cele mai cunoscute forme de gradienți de fază mobilă

Detectori

Tehnica HPLC s-a dezvoltat o dată cu perfecționarea detectorilor. Am amintit că *detectorii în cromatografie* sunt instrumente analitice specializate, situate la ieșirea eluentului dintr-o coloană și care pot înregistra continuu substanțele separate de către aceasta. Deci detectorii constituie acea parte a instrumentației care permite să se observe modul cum decurge separarea prin coloană fără a se vedea componenții propriu zișI ci doar semnalul lor. Întrucât coloanele de separare performante au capacități de încărcare mici, sistemul de detecție trebuie să fie unul foarte sensibil. Totodată, pentru că în LC volumul de probă este de ordinul microlitrilor (8-10µl), volumul detectorilor trebuie să fie de volum apropiat pentru a se putea sesiza în mod continuu picul cromatografic.

În calitate de instrumente se poate utiliza, în principiu, oricare dispozitiv de analiză chimică cunoscut, pentru probe lichide, precum și orice combinații de instrumente fizice. De exemplu, în ultimul timp, combinația dintre un detector refractometric și unul bazat pe difuzia luminii este extrem de eficace în analiza polimerilor în amestec cu monomeri sau oligomeri dintr-un material. Există chiar posibilitatea creșterii sensibilității detecției printr-o reacție chimică în urma adăugării, cu un debit controlat, a unui reactiv potrivit. Tehnica se numește *derivatizare* și se poate practica chiar înainte de introducerea probei în coloană, dar și după ieșirea din coloană a componentelor separate. Metoda a fost utilizată până în prezent în special legată de metodele spectrofotometrice (colorimetrice) sau fluorimetrice și mai ales pentru analiza unor amestecuri de compuși numeroși având aceleași funcțiuni reactive (de exemplu aminoacizi).

Caracteristicile detectorilor sunt asemănătoare cu ale celorlalte instrumente analitice și oarecum similare cu cele descrise la *metoda GC*.

Detectori spectrofotometrici în UV-VIS

Acest grup de detectori sunt cei mai folosiți detectori până în prezent, atât în LC, cât și în HPLC. Pentru a putea fi utilizați, compușii separați cromatografic trebuie să fie *colorați* - adică să absoarbă lumina pe domeniul de lungimi de undă al detectorului. Pe de altă parte, eluentul trebuie să fie practic transparent pentru același domeniu spectral.

Legea fizică pe baza căreia funcționează acești detectori a fost prezentată - este vorba de *legea Lambert-Beer* ($A = \varepsilon lC$). Deci unitățile vor fi unități de absorbanță, adimensionale. De aceea limita de detecție sau zgomotul de fond se prezintă în cazul acestor detectori în AUFS (prescurtare de la Absorbance Units Full Scale = unități de absorbanță raportate la întreaga scală, l. engl.). Astfel în cadrul instrumentelor actuale sensibilitatea este de 0,001 AUFS cu zgomotul de fond de 1%.

Motivul principal al popularității acestor detectori este acela că numeroasele substanțe organice, anume cele care conțin legături duble (electroni π), respectiv au grefate funcțiuni organice cu electroni neparticipanți, absorb lumina în UV-VIS. Este vorba de toate hidrocarburile olefinice şi aromatice precum şi derivații tuturor hidrocarburilor cu diferite funcțiuni organice (=C=O, =C=S, -N-O, -N=N-, $-NH_2$). Între acestea se includ şi numeroasele combinații de interes biologic ca enzime, acizi nucleici etc.

Un mare avantaj al acestor detectori este faptul că sunt insensibili la micile variații de debit şi temperatură.

Celula de detecție face parte dintr-un spectrofotometru şi are un volum extrem de mic, de 8-10µl, respectiv un diametru interior de 1mm la o lungime a celulei de10 mm. Construcția acestora este ilustrată în fig. 13.

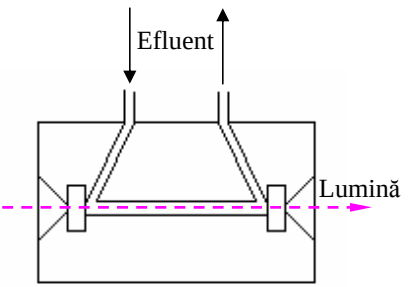


Fig. 13. Celula unui detector bazat pe spectrofotometrie de absorbție în UV

Se pot distinge şi în cazul acestei clase de detectori mai multe tipuri de detectori.

Detectorii monocromatici au fost primii utilizați, fiind mai ieftini deoarece lucrează doar la o lungime de undă. Modelul cel mai răspândit se compune dintr-o sursă luminoasă cu deuteriu sau cu vapori de mercur, un monocromator care separă un domeniu îngust (de ex. linia 254nm a mercurului) şi un detector. Schema bloc a unui astfel de detector este prezentată în fig. 14.

Detectorii policromatici mai frecvent utilizați în cromatografele HPLC moderne permit şi selectarea lungimii de undă la care se lucrează, dar chiar pot înregistra electronic absorbanța celulei la mai multe lungimi de undă simultan. Acest mod de lucru dă o mai mare siguranță analizei, în sensul că permite *stabilirea purității*, adică dacă picul constituie un semnal dat de o singură substanță sau de un amestec (ceea ce se cunoaşte sub numele de stabilirea purității picului). Aceşti detectori conțin celula amintită montată într-un *spectrofotometru cu rețea de diode*.

Sursă	→	Monocromator	→	Celulă	→	Înregistrator

Fig. 14. Schema bloc a unui detector HPLC spectrofotometric

Detectori refractometrici

Detectorii refractometrici, au la bază *legile refracției luminii*. Principiul de funcționare al acestor detectori are la bază legea lui Fresnel - de transmitere a luminii prin medii transparente având un indicele de refracție dat. Astfel, un fascicul luminos (mono sau policomponent) trece printr-o celulă cu două compartimente unul conținând doar eluentul pur iar celălalt faza mobilă care părăsește coloana (fig. 15).

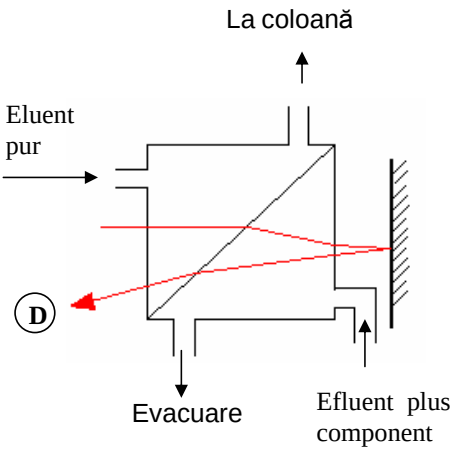


Fig. 15. Principiul de funcționare al unui detector refractometric

Diferența dintre indicii de refracție pentru soluțiile aflate în cele două compartimente vor fi practic nule, atâta timp cât din coloană iese doar eluentul pur, dar diferită în momentul în care în eluent mai apare un component separat - antrenat de către eluent din coloană. În momentul ieşirii unui component are loc o deplasare a poziției fascicolului emergent din detector - deplasare care este proporțională cu concentrația şi sesizată de către detectorul D.

În cazul acestui tip de detector sunt posibile şi picuri negative, ceea ce face necesară aducerea liniei de bază la jumătatea scalei lucru care, pe lângă sensibilitatea relativ coborâtă (10^{-5}mol·L^{-1}), constituie un dezavantaj. Acest detector este universal, dar nu poate fi utilizat în cromatografia cu gradienți deoarece, în acest caz, compoziția eluentului la intrarea în coloană diferă de cea de la ieşire şi se modifică continuu, neexistând o linie de bază. De asemenea fenomenul este foarte sensibil la temperatură (±0.0001°C) fiind necesară termostatarea, atât a detectorului cât şi a coloanei.

Detectorii conductometrici

Acest tip de detectori se utilizează cu precădere în cromatografia pe schimbători de ioni (v. cap. 18) şi sunt sensibili la ioni anorganici sau organici inclusiv acizi organici. Sunt

aşadar detectori specifici. Sunt suficient de sensibili (500pg-1ng). Principiul de funcționare este descris schematic în fig. 16. Tehnic este vorba de o celulă miniaturizată cu totul analogă unei celule conductometrice.

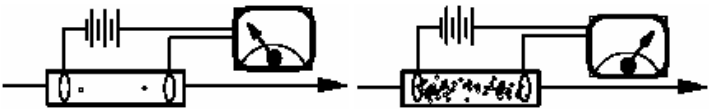


Fig. 16. Principiul de funcționare pentru celula conductometrică

Alți detectori

Pe lângă cei amintiți, mai răspândiți, în practica analitică se mai întâlnesc şi alți detectori prezentați schematic în tabelul 4. Dintre aceştia o mențiune specială trebuie făcută pentru cei bazați pe spectrometria de masă şi *FT-IR* [116], care au permis determinări calitative uneori imposibil de realizat prin alte variante de detecție în lipsa etaloanelor cunoscute.

Tabelul 4. Alți detectori utilizați în LC

Detectori LC	Limita de detecție [117]	Caracteristici	Disponibilitate comercială
Fluorimetrici	1-10pg	Sensibilitate 10^{-10}M Este necesară uneori derivatizarea	Da
Electrochimici (Amperometrici)	10pg = 1ng	Sensibilitate 10^{-10}M Compuşi oxidabili sau reductibili	Da
Bazați pe Spectrometria de Masă (MS)	100pg - 1ng	Necesare coloane capilare Necesară pulverizarea Preț de cost ridicat	Da
FT-IR	1µg	Preț de cost ridicat	Da
Difuzia luminii	10µg	Adecvați pentru macromolecule	Da
Activitate optică	1ng	Pentru substanțe optic active	Nu
Electrozi ion selectivi	10ng	Doar pentru ioni sau compuşi ionizabili	Nu
Fotoionizare	1pg - 1ng	-	Nu

Aceşti detectori permit ca, pe baza unei baze de date formată din spectre cunoscute, să se obțină compuşii cei mai apropiați (3 dintre aceştia), din toate substanțele chimice cunoscute, care ar putea fi prezenți în probă.

[116] FT-IR reprezintă prescurtarea denumirii, în l. engl. a Spectrometriei în IR cu transformată Fourier.

[117] Limita de detecție se calculează prin cantitatea de substanță injectată care dă un semnal de 5 ori mai mare decât valoarea σ a zgomotului de fond pentru o substanță cu masa molară de 200 $g \cdot mol^{-1}$ injectată în 10µl pentru o coloană normală şi în 1µl pentru coloane capilare.

Întrebări de verificare

1. Care este locul HPLC în analizele instrumentale moderne?
2. Descrieți părțile componente ale unui cromatograf LC.
3. Câte tipuri de pompe se utilizează în HPLC?
4. Care este metoda cea mai folosită pentru introducerea probei în HPLC?
5. Care sunt principalele mecanisme de separare în LC?
6. Prin ce se deosebeşte faza mobilă în LC față de GC?
7. Ce avantaj aduce utilizarea gradienților de eluție?
8. Care este rostul unei precoloane?
9. Care sunt cele mai importante mecanisme de separare şi care dintre acestea este cel mai utilizat în practica curentă?
10. Ce fel de grupări funcționale de pe suprafața silicagelului determină apariția unor cozi?
11. Cum se realizează fazele chimic legate pe silicagel?
12. Ce reprezintă tăria relativă a eluentului?
13. Când se foloseşte gradientul de eluție?
14. Ce dezavantaje au detectorii refractometrici?
15. Pentru ce substanțe se pretează detectorii conductometrici?

Nu spune niciodată oamenilor cum să facă un lucru;
spune-le ce să facă şi ei te vor surprinde prin ingeniozitatea lor
George S. Patton Jr. (1885-1945), general american

Cromatografia ionică (IC)

Separarea prin schimb ionic

Utilizarea *cromatografiei ionice* a apărut datorită necesităților de a analiza amestecurile de anioni, cationi sau compuși polari - lucru dificil sau imposibil de realizat eficient prin celelalte variante ale cromatografiei de lichide. Această variantă a cromatografiei de lichide de înaltă presiune se bazează pe utilizarea coloanelor cu schimbători de ioni respectiv a materialelor rezistente la agresivitatea acizilor, bazelor sau sărurilor - substanțe a căror soluții apoase care servesc drept eluenți.

Schimbătorii de ioni sunt materiale solide - derivați ai unor polimeri reticulați (pороși), obținuți prin legarea de catenele hidrocarbonate, ramificate, ale unor grupe funcționale așa cum sunt reprezentate schematizat în figura 1.

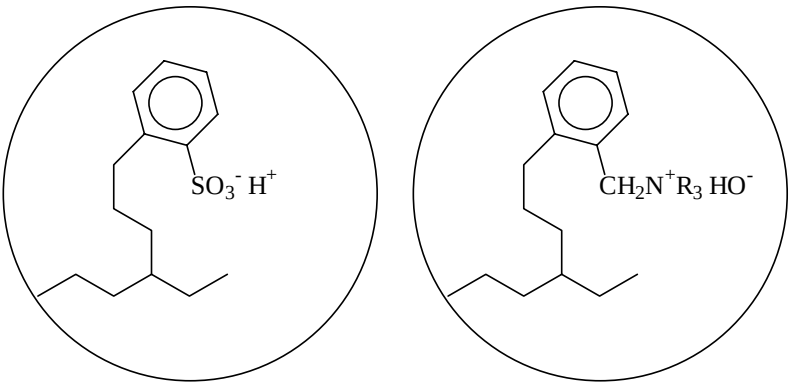


Fig. 1. Cele două tipuri principale de rășini schimbătoare de ioni

Granulele de rășină se solvatează cu apă tinzând spre un *volum limită* maxim. Prin spațiile dintre catenele unui cationit pot pătrunde prin difuziune în fază lichidă doar molecule neutre sau cationi, anionii fiind excluși. Pătrunderea în granule a ionilor de semn contrar este îngreunată şi de un alt efect, numit *efectul Donnan* de membrană, care apare pe suprafața granulei şi provoacă o selectivitate a acesteia la pătrunderea ionului, în funcție de dimensiunile acestuia. Mai există şi un al treilea mecanism util în cazul substanțelor neionice sau a celor ionice dar cu gruparea ionică identică dar cu geometria moleculei diferită - *difuzia prin granule*. Analog stau lucrurile într-un anionit, cu deosebirea că de astă dată sunt excluşi cationii.

Dacă pe o coloană umplută cu un cationit (vezi fig. 1-stânga) se introduce un amestec de doi ioni, să zicem cel format din sodiu şi potasiu, aceştia vor fi fixaţi pe răşină, eliberând o cantitate echivalentă de ioni hidroniu. Fenomenul chimic care are loc se poate scrie:

$$R\text{-}H + Na^+ \rightleftharpoons R\text{-}Na + H^+$$

$$R\text{-}H + K^+ \rightleftharpoons R\text{-}K + H^+$$

Pompând un eluent prin coloană, de exemplu o soluţie diluată de acid clorhidric, ionii H^+ din acid, fiind în concentraţie mai mare, vor deplasa ionii fixaţi, prin echilibre ionice similare spre o porţiune inferioară:

$$R\text{-}Na + H^+ \rightleftharpoons R\text{-}H + Na^+$$

$$R\text{-}K + H^+ \rightleftharpoons R\text{-}H + K^+$$

iar aceştia se vor putea fixa din nou, puţin mai jos, pe alte centre de schimb din coloană.

Procesul se repetă ionii migrând de sus în jos prin coloană. Deoarece grupările funcţionale $-SO_3^-$ au o afinitate ceva mai mare pentru ionii de potasiu decât faţă de cei de sodiu, primul grup de ioni (sau prima zonă) care va ieşi din coloană va fi cel format din ionii de sodiu şi abia după un timp va ieşi grupul conţinând ionii de potasiu. Astfel se realizează separarea celor doi ioni. Similar stau lucrurile cu amestecuri mai complicate, uneori fiind necesare coloane mai lungi. Întrucât cu cât diametrul granulelor este mai mare zonele sunt mai largi şi, totodată, separarea mai de durată iar granulele se deformează mecanic, în timp mai uşor, ulterior răşina a fost aplicată sub formă de peliculă subţire pe un miez de sticlă sferică, eficacitatea separării şi fiabilitatea coloanelor crescând foarte mult.

Fazele mobile în IC sunt simple - soluţii apoase diluate de acizi sau baze şi doar când este necesar, se mai adaugă o concentraţie coborâtă de metanol pentru a se facilita dizolvarea moleculelor puţin ionizate în apă. Pentru separarea cationilor se utilizează ca *faze staţionare* cationiţi (schimători de cationi) şi drept eluenţi, soluţii de acizi, iar pentru separarea bazelor se folosesc anioniţi (schimbători de anioni) şi ca eluenţi soluţii de baze, de exemplu, o soluţie de hidrogenocarbonat de sodiu. Structura acestora este de cele mai multe ori diferită de a schimbătorilor de ioni obişnuiţi (fig. 1) şi va fi tratată mai detaliat în continuare.

Detecția

La părăsirea coloanei ionii nu pot fi detectați suficient de sensibil, conductometric, în mod direct, deoarece au concentrații coborâte şi sunt conținuți în eluentul format dintr-un electrolit - cu o concentrație comparabilă sau chiar mai mare. De aceea s-a recurs la *supresorul ionic*. Acesta a fost realizat pentru prima dată de un grup de cercetători american, în 1975 (H. Small şi colab.) iar inițial a constat dintr-o *coloană-supresor*, plasată în continuarea celei de separare, cu rolul de a transforma eluentul (un acid sau o bază tare) în apă. De exemplu, pentru eluentul amintit anterior - acidul clorhidric - coloana supresor este umplută cu o rășină schimbătoare de anioni, având o capacitate de schimb mare (de tipul celei din fig. 1-dreapta) cu o formulă generală: R-OH. Părăsind coloana de separare eluentul, conținând acid clorhidric diluat, va pătrunde în coloana supresor unde se va petrece reacția:

$$R\text{-}OH + (H^+ + Cl^-) \rightleftharpoons R\text{-}Cl + H_2O$$

prin care acidul utilizat drept eluent se transformă în apă - un neelectrolit.

Între timp, sărurile se transformă în hidroxizii corespunzători:

$$R\text{-}OH + (Na^+ + Cl^-) \rightleftharpoons R\text{-}Cl + (Na^+ + OH^-)$$

$$R\text{-}OH + (K^+ + Cl^-) \rightleftharpoons R\text{-}Cl + (K^+ + OH^-)$$

Apa fiind practic neionizată va permite detecția sensibilă a hidroxizilor - total ionizați - ce au apărut din zonele formate inițial din cele două săruri. Schema unui cromatograf ionic este reprezentată în fig. 2a iar în fig. 2b este redată distribuția concentrațiilor speciilor ionice la ieşirea din prima coloană, în punctul A (fig. 2a). Pe aceeaşi figură este prezentată conductanță şi la ieşirea din supresorul ionic, în punctul B.

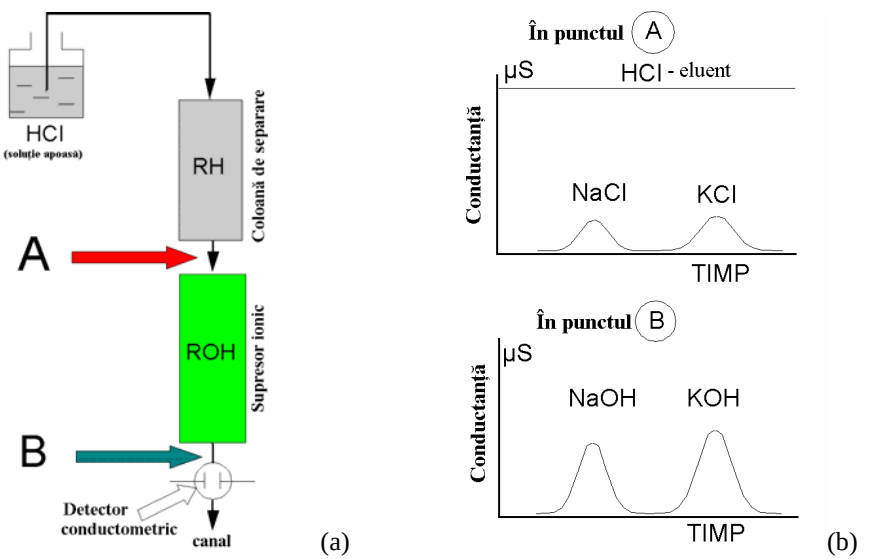


Fig. 2. Schema de principiu a cromatografiei ionice (IC) -(a) şi a modului de acțiune a supresorului ionic -(b). Aici RH este coloana de separare iar ROH, coloana supresor

Semnalul (în µS adică micro-Siemens) este cel care ar fi dat de către un detector conductometric *dacă ar fi plasat în punctele* A *respectiv* B. Deoarece şi eluentul este format din ioni care conduc curentul, înainte de supresor semnalul va fi mai slab. Deci, cea de a doua cromatogramă (fig. 2b) este chiar semnalul detectorului din IC.

Dacă se urmăreşte separarea a doi anioni, de exemplu Cl^- şi Br^-, eluentul ar putea fi, nu un acid ci o bază diluată, de ex. NaOH, sau $NaHCO_3$. În cazul acesta separarea se va realiza pe coloane de anioniți şi eluentul ar fi de exemplu NaOH, la ieşirea din coloana de separare avem în eluentul folosit zonele separate ale sărurilor anionilor supuşi analizei, adică NaCl şi NaBr. Supresorul utilizat în acest caz va fi format dintr-o răşină de forma R-H în exces pe care se va petrece reacția:

$$R\text{-}H + (Na^+ + OH^-) \rightarrow R\text{-}Na + H_2O$$

În afară de detectorul conductometric se mai pot utiliza şi alte tipuri de detectori cum ar fi cei amperometrici sau voltametrici.

Supresorul electrochimic

Supresorul electrochimic (sau autosupresorul) din cromatografele ionice recente, a înlocuit mica coloană cu schimbători de ioni cu membrane schimbătoare (fig. 3) având aceeaşi compoziţie şi, în plus, schimbul ionic este accelerat prin electrodializă. În acest fel s-a mărit viteza procesului şi s-a micşorat volumul mort. Mai mult, a crescut durata de funcţionare a detectorului. De exemplu în fig. 3 se prezintă shematic principiul de funcţionare a unui astfel de supresor electrolitic pentru cazul ieşirii din coloană a oricăror anioni, notaţi pentru simplitate cu X.

Eluentul care a ieşit din coloana de separare trece prin spaţiul îngust dintre două membrane. După transformarea eluentului în apă în interiorul supresorului electrolitic, iar a componenţilor ionici separaţi în acizi, datorită membranei care, de astă dată este una cationică (RH), soluţia intră în detector iar ulterior alimentează spaţiul dintre membrane şi cei doi electrozi: unul, pozitiv (+), respectiv celălalt, negativ (-). Fenomenul de electrodializă este redat mai detaliat în fig. 4.

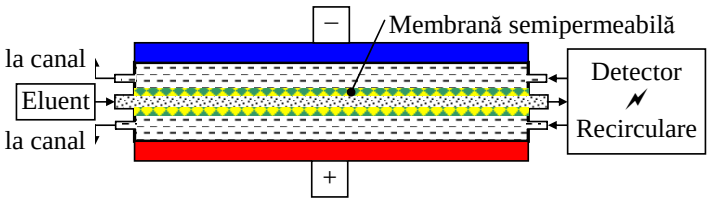


Fig. 3. Amplasamentul supresorului electrochimic la ieşirea din coloană

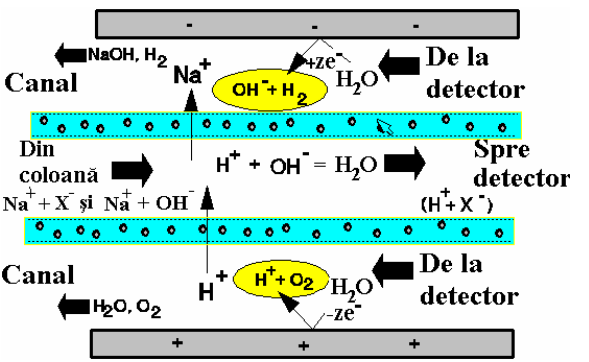


Fig. 4. Principiul supresorului electrolitic bazat pe membrane schimbătoare de ioni în IC

Se poate observa cum membrana schimbătoare de cationi, R-H, permite transferul catonilor H^+ (dinspre polul +) şi Na^+ (spre polul -) dar nu permite transferul anionului X^- datorită efectului Donnan. Tot datorită acestui efect nu traversează membrana nici ionul OH^-. În detector intră, în cazul separării unui amestec de anioni X^-, respectiv Y^-, doar acizii HX respectiv HY total disociaţi în apă. În consecinţă *în detectorul conductometric, din cauza lipsei de conducţie a apei pure, raportul semnal/zgomot este mult îmbunătăţit*.

Aplicații

Una din cele mai importante aplicații este analiza speciilor anorganice, cum ar fi analiza cationilor și anionilor din ape, soluții sau fluide biologice dar și pentru analiza unor poluanți (cum ar fi ionul NH_4^+ din apele naturale). Alte aplicații imediate sunt analiza băilor de galvanizare sau a lichidelor de natură apoasă conținând săruri: sucuri de fructe, fluide industriale, alimente etc. Metoda permite și analiza unor specii organice polare cum ar fi acizii sau aminele.

Întrebări de verificare

1. Care componentă a instrumentației este sediul separării cromatografice în cromatografia ionică?
2. Ce semnificații au simbolurile GC, LC respectiv IC?
3. Care sunt eluenții folosiți în IC?
4. Ce faze staționare utilizează cromatografia ionică?
5. Ce rezultă din reacția RH + Na^+ + Cl^- ? Dar din reacția ROH + Na^+ + Cl^-?
6. Ce efect are supresorul ionic asupra detecției? Ce rezultat are acesta asupra semnalului?
7. Ce detector se utilizează cu precădere în cromatografia ionică?
8. Care este dezavantajul supresorului ionic cu schimbători de ioni, care a fost înlăturat prin introducerea celui cu membrană schimbătoare (electrochimic)?
9. Cu ce tehnică se pot analiza anionii Cl^- şi SO_4^{2-} din ape?

Adevărul pur şi simplu este rareori pur şi niciodată simplu
Oscar Wilde (1854-1900)

Cromatografia planară (TLC)

O variantă mai simplă a LC

Cromatografia planară (PC) întâlnită adesea sub denumirea de cromatografie în strat subțire este cea mai *simplă şi ieftină* dintre toate metodele cromatografice cunoscute. Mai este denumită şi *cromatografia de lichide a săracului*.

În literatura de specialitate se utilizează mai multe denumiri (cu prescurtările asociate acestora). Pe lângă termenul consacrat - cromatografia planară (planar chromatography - PC [118]) se mai întâlnesc denumiri ca cromatografia în strat subțire de înaltă performanță (high performance thin layer chromatography - HPTLC) sau cromatografia de lichide planară (planar liquid chromatography - PLC).

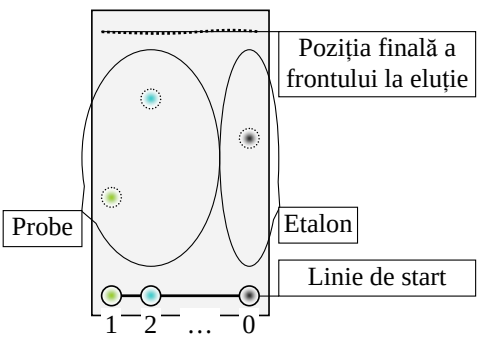


Fig. 1. Placa cromatografică şi pozițiile relative ale spoturilor

În această variantă a *cromatografiei de lichide*, separarea nu mai are loc într-o coloană închisă ci pe o fază staționară similară, granulară (poroasă) dispusă într-un *strat subțire*, formând un plan (fig. 1). Acest strat denumit *subțire*, se realizează dintr-un adsorbent cu grosimi cuprinse între 100-250µm şi poate fi simplu sau legat adeziv de un plan rigid, fiind pe tot parcursul separării în contact cu o fază gazoasă - mai mult sau mai puțin saturată cu vapori de eluent. Primul caz a fost mult utilizat în trecut în cazul aşa-numitei cromatografii pe hârtie unde faza staționară consta dintr-o bandă de hârtie de filtru, confecționată din celuloză pură, sau, extrem de rar, prin folosirea unor plăci din materiale ceramice sinterizate poroase. Celălalt caz mult mai utilizat (chiar în zilele noastre) face apel la straturi subțiri realizate dintr-un adsorbent pulverulent (silicagel, celuloză, alumină, poliamidă sau derivate ale acestora) dispuse în straturi subțiri pe plăci rigide din sticlă sau, pe folii flexibile din aluminiu,

[118] Din l. engleză

poliester sau alte materiale inerte față de sistemul pe care are loc separarea. Se mai poate recurge și la straturi formate pe baghete de sticlă sau tuburi din sticlă.

Obținerea straturilor subțiri se realiza la început în laborator, pornindu-se de la o suspensie apoasă a adsorbentului pulverulent (10-40μm) împreună cu un liant anorganic (de exemplu ghips, SiO_2-coloidal) sau organic (amidon, carboximetilceluloză), iar pentru aplicare se foloseau nişte dispozitive mecanice simple. Straturile subțiri mai pot include și indicatori de fluorescență care în lumină UV fac posibilă vizualizarea spoturilor substanțelor care absorb în acest domeniu prin stingerea fluorescenței, adică prin apariția unor spoturi întunecate pe fond luminos. Straturile subțiri pot fi achiziționate gata preparate de la firme producătoare specializate (Camag, Cole-Parmer etc.).

Aplicarea probei

Pentru a se putea demara procesul de eluție, în prealabil pe placa cu strat subțire se aplică proba. Acest lucru se realizează cu seringi sau micro-pipete, dar și alte dispozitive specializate (fig. 2), astfel încât să se obțină aliniate, pe linia de start (fig. 1), mai multe spoturi de probe, respectiv de amestecuri etalon - supuse simultan separării. Întrucât probele se aplică din soluții diluate (1-2%), în anumiți solvenți, pentru a se evita interferența acestora în procesul de eluție, plăcile se usucă înainte de introducerea în amestecul de solvenți. Astfel se pot supune separării probe care se concentrează pe zone înguste (de lungime și lățime preselectate) asigurându-se o eficiență mărită separării.

Migrarea eluentului

Are loc prin coloana deschisă, care acționează cu totul analog celei închise (vezi LC), are loc sub acțiunea forțelor capilare și provoacă migrarea diferențiată a componentelor amestecului de separat. Acest lucru se realizează în urma simplei scufundări (manuale) a plăcii cromatografice în eluentul potrivit. Din acest moment, eluentul irigând prin capilaritate stratul poros migrează ascendent prin stratul subțire, provocând separarea. Timpul de separare variază între 3 și 60 min.

Nu este totuși exclusă utilizarea unor dispozitive mai sofisticate de alimentare cu solvenți (minipompe) - făcându-se uneori apel chiar la gradienți de concentrație (v. par. 16.5 în cazul LC). Se poate de asemenea practica migrarea eluentului pe orizontală sau descendent. Se poate elua o placă chiar de mai multe ori sau se poate evapora solventul în timpul migrării, în acest fel mărindu-se eficiența pe seama timpului de separare.

Pentru realizarea separării (eluției) se utilizează *camere de developare*. Câteva dintre cele mai utilizate dintre acestea se prezintă în fig. 3. Formele preferate sunt cele

paralelipipedice sau cilindrice (pahare), prevăzute cu un capac şi eventual cu un dispozitiv de fixare a plăcii plane (hârtie sau strat subțire) şi pot fi saturate cu amestecul de solvenți din tanc, pentru a se mări viteza de eluție. Camerele paralelipipedice (fig. 3N) se numesc camere de tip N (normale) iar cele subțiri (fig. 3S) poartă numele de camere de tip S (sandwich). Ultimele prezintă avantajul unui volum mai redus al fazei gazoase având o viteză de saturare mai mare și o durată a procesului de separare cu ceva mai mică.

Fig. 2. Aparatul Linomat: aplică probele în formă de benzi pe straturile subțiri

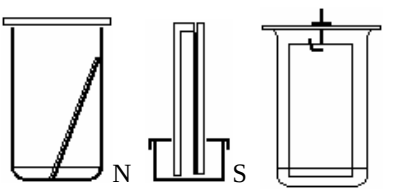


Fig. 3. Câteva dintre cele mai uzuale camere cromatografice în PC

Eluția are loc după introducerea plăcii în camera cromatografică, până când amestecul de solvenți atinge o înălțime finală, fixată de obicei între 5 şi 18 cm, sau un anumit timp stabilit, în prealabil, prin încercări preliminare. Solvenții utilizați se aleg în funcție de proprietățile de eluție ale substanțelor supuse separării (analizei). Natura acestora depinde nu numai de substanțele implicate dar şi de mecanismul de separare propus, respectiv de faza staționară avută la dispoziție.

După eluție, placa se scoate, se usucă şi dacă spoturile nu se văd, se trece la *vizualizarea* acestora (operație numită uneori revelare). Pentru aceasta, placa fie se scufundă într-un reactiv, fie se pulverizează cu acesta sau se introduce într-o atmosferă conținând gaze reactive şi chiar într-o etuvă, la cald, când spoturile devin vizibile în urma unor reacții chimice (având un aspect apropiat celor din fig. 4).

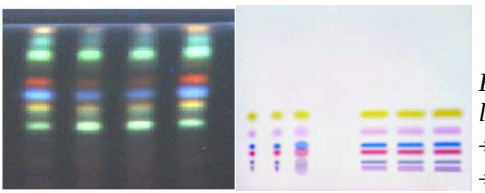


Fig. 4. Aspectul plăcilor şi al spoturilor la vizualizare:
÷ *în lumină UV (stânga)*
÷ *în lumină vizibilă (dreapta)*

Doar apoi se poate trece la etapa analizei propriu-zise. Reactivii de culoare pot fi generali, ca de exemplu acidul sulfuric la cald (120°C), care determină carbonizarea majorității substanțelor organice, sau specifici, când aceştia reacționează doar anumite substanțe sau funcțiuni organice.

O altă variantă de a face spoturile vizibile, preferată tot mai mult în ultimul timp, este folosirea unor *straturi subțiri fluorescente* (spre exemplu materialul pulverulent conține ZnS - fluorescent). Prin examinarea cromatogramelor eluate şi uscate în lumină UV, se vor observa spoturi închise la culoare sau colorate, pe fond fluorescent - luminos. Atunci când chiar substanțele separate sunt fluorescente nu mai este nevoie de fondul fluorescent şi este suficientă o placă obişnuită, observată în lumină UV, spoturile devenind luminoase pe un fond întunecat (fig. 4).

O variantă şi mai modernă, foarte eficace de vizualizare, folosind tot lumină UV, constă în utilizarea unor plăci cu straturi subțiri conținând *amestecuri de luminofori*. În acest caz plăcile au o culoare compusă (de regulă lumina emanând din trei substanțe luminescente având culori diferite). Cum fiecare luminofor emite la o altă lungime de undă, iar substanțele separate absorb diferit lumina, fiecare component de pe placă va avea, în consecință, o altă culoare. În acest caz detecția este mai sigură pentru că nu diferă doar poziția relativă a spotului respectiv pe placă ci şi culoarea.

Faze mobile şi faze staționare

Analog cu cromatografia de lichide, respectiv cu varianta HPLC [119], în PC sunt posibile mai multe mecanisme de separare: (1) cromatografia de adsorbție, (2) cromatografia de repartiție (cu faze directe şi cu faze inversate), (3) cromatografia de schimb ionic şi (4) cromatografia de excluziune sterică. Aceleaşi faze staționare (silicagel, alumină, celuloză sau derivați ai acestora) se utilizează în granulații fine (<40μm) dar fără părțile extra fine (<1μm). În ultimul timp câştigă tot mai mult teren fazele chimice legate, pentru separări în cromatografia de repartiție cu faze inversate (solvenți polari şi faze staționare nepolare). Ca şi în HPLC, se utilizează tot silicagelul silanizat având grefate grupări alchilice conținând 8 sau 18 atomi de carbon - echivalente cu o peliculă subțire de fază nepolară depusă pe granula-suport.

Fazele mobile sunt adesea amestecuri de 2 până la 5 solvenți cât mai diferiți ca natură chimică, aleşi prin încercări preliminare. Pentru straturi subțiri din silicagel (cele mai utilizate) prezentăm o listă cu 10 solvenți extraşi din 8 grupe de selectivitate (propuse de Snyder, un cercetător american care a clasificat solvenții organici în funcție de mai mulți parametri structurali şi fizici), care diferă între ele prin structura chimică: eter etilic (grupa I), izopropanol şi etanol (II), tetrahidrofuran (III), acid acetic (IV), diclormetan (V), acetat de etil şi dioxan (VI), toluen (VII) şi cloroform (VIII). Hexanul este un solvent considerat complet nepolar şi este recomandat a fi introdus în amestecuri pentru aducerea spoturilor în domeniul considerat optim, de R_f = 0.2-0.8 dacă mai este necesar.

[119] HPLC = High Performance Liquid Chromatography

Analiza chimică prin PC

Analiza calitativă

Fiecare compus separat prin PC este caracterizat (calitativ) de parametrul de retenție denumit R_f (o prescurtare de la termenul din l. engl.: *retardation factor*). Acesta se calculează astfel:

R_f = (Distanța parcursă de componentul dat, i)/(Distanța parcursă de frontul solventului)

sau

$$R_f = \frac{x_i}{x_0}$$

unde cu x_I, respectiv cu x_0, s-au notat distanțele parcurse de componentul dat, respectiv de frontul solventului, până la oprirea cromatogramei. Toate mărimile calculate pentru o *coloană închisă* au o mărime corespondentă şi în PC. De exemplu parametrul de retenție R devine R_f (f de la front):

$$R_f = \frac{x}{x_0} = \frac{\bar{v}}{v_0} = \frac{t_0}{t} = \frac{1}{k+1}$$

unde v reprezintă viteze de migrare, t - timpi de migrare iar k factorul de capacitate. De aici, implicit:

$$k = \frac{1}{R_f} - 1$$

Comparându-se valorile R_f ale spoturilor etaloanelor cu cele ale substanțelor din proba de analizat (lucru realizat de cele mai multe ori vizual) se spune că se face analiza calitativă. Aceasta este cea mai utilă aplicație a metodei PC. Se pot identifica pesticide din ape, sol dar şi alte substanțe pentru scopuri ştiințifice şi tehnice cu o sensibilitate mult mai bună decât în eprubetă. Desigur că sensibilitatea atinsă este inferioară celei din *HPLC*. De aceea, în aplicațiile analitice de performanță, cu toată simplitatea şi prețul de cost scăzut, PC nu poate înlocui întotdeauna HPLC.

Tot în scopul realizării analizei calitative se poate practica şi *cromatografia bidimensională*. În această variantă (fig. 5), se utilizează o placă pătrată, iar spotul (unul singur) se aplică într-unul dintre colțuri, de exemplu: în dreapta-jos. Se eluează cu un amestec de solvenți 1, având loc o primă separare. Apoi, după oprire se usucă placa. Se rotește placa cu 90° şi se începe o nouă irigare a acesteia folosind un alt amestec de solvenți, 2. Doar apoi placa se vizualizează şi se compară cu o placă etalon - pe care avem un amestec similar dar cunoscut.

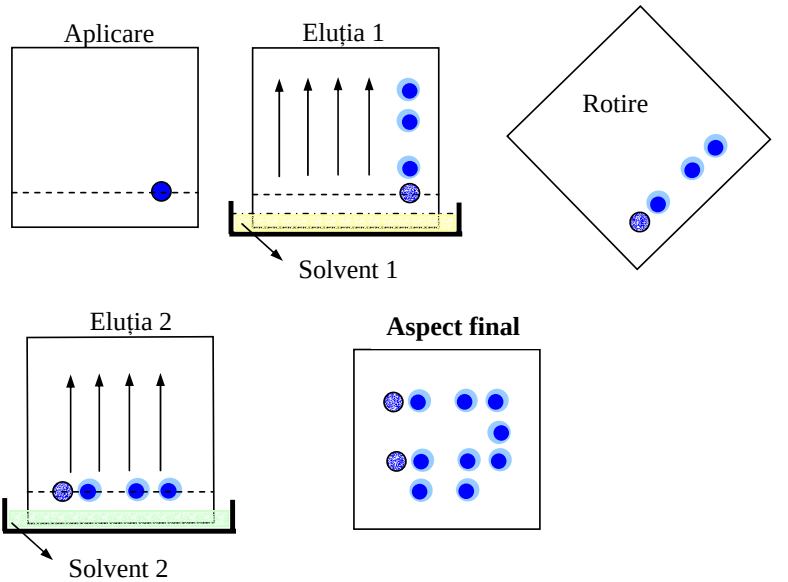
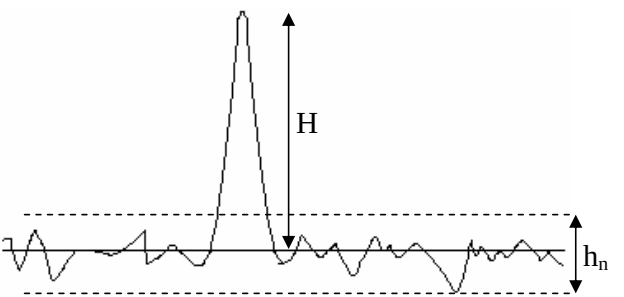


Fig. 5. Modul de executare a cromatografiei în strat subțire bidimensionale

Analiza cantitativă poate începe după efectuarea separării şi vizualizării sau prin executarea unei măsurători asupra unui parametru fizic (radioactivitate) proporțional cu concentrația substanței din spotul de interes analitic. Metodele practicate pe scară largă sunt *densitometria* prin transmisie sau reflexie a spotului (spoturilor), respectiv mai recent scanarea. Densitometria se poate realiza în lumină vizibilă sau UV, în ultimul caz fiind posibilă şi măsurarea radiației de fluorescență. Semnalul măsurat serveşte la construirea unei curbe de etalonare din semnalele măsurate pentru diferitele spoturi, conținând cantități crescătoare de component, aplicate, alături de proba necunoscută, pe aceeaşi placă. Se preferă *metoda curbei de etalonare* în reflexie (adică prin măsurarea reflectanței) deoarece domeniul liniar al metodei este destul de îngust şi adesea curba de etalonare este neliniară. Motivul principal pentru care rezultatele analizei cantitative prin PC sunt inferioare HPLC sunt neuniformitățile stratului subțire care contribuie în mod hotărâtor la mărirea raportului semnal/zgomot, notat S/N. Astfel, conform fig. 6, unde H este înălțimea picului (semnalului) analitului iar h_n - lățimea domeniului în care variază zgomotul de fond (intervalul ±2σ).



$$S/N = \frac{H}{h_n/2} = \frac{2H}{h_n}$$

Fig. 6. Ilustrarea mărimilor care afectează raportul semnal/zgomot

O variantă mai simplă dar mai laborioasă de analiză cantitativă constă în *spălarea* zonei corespunzătoare analitului de pe suport într-un pahar, folosind un solvent adecvat şi apoi determinarea, cu o altă metodă instrumentală, a concentraţiei soluţiei rezultate.

Evaluarea cu ajutorul *foto-densitometrelor* este până în prezent cea mai utilizată metodă. În aceste instrumente, placa cromatografică cu stratul pe ea, se deplasează odată cu suportul (de regulă în direcţia developării), prin faţa fantelor sistemului optic de iluminare, respectiv de măsurare a intensităţii luminii reflectate. Schema unui astfel de dispozitiv se poate observa pe fig. 7.

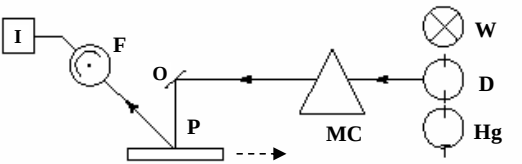


Fig. 7. Reprezentarea schematică a unui densitometru

Pe această figură se pot remarca posibilitatea de utilizare a unei lămpi cu incandescenţă - cu halogen - (*W*), pentru determinări în domeniul vizibil (400-800nm), a unei lămpi cu deuteriu (*D*) pentru spoturile care absorb în UV (190-400nm) sau a unei lămpi UV cu intensitate mai ridicată (cu xenon sau cu vapori de mercur), notată *Hg*, pentru spoturile fluorescente. Lumina monocromatică care părăseşte monocromatorul *MC* se reflectă pe oglinda *O*, se reflectă pe placa cu strat subţire *P* iar lumina reflectată este receptată pe fotomultiplicatorul *F*. Semnalul obţinut este înregistrat de înregistratorul *I*, care poate fi chiar un calculator.

După înregistrare, *densitogramele* se evaluează cantitativ, fie prin măsurarea înălţimii picurilor, fie a suprafeţei acestora. Oricare dintre mărimile măsurate poate constitui semnalul analitic. Trasarea graficului semnal analitic în funcţie de cantitatea de substanţă din spot, duce la o *curbă de etalonare.* În cazul determinărilor de fluorescenţă acest grafic este liniar.

Un exemplu de determinare cantitativă din domeniul controlului poluării mediului îl constituie determinarea seleniului din ape. În acest caz înainte de aplicarea probei pe placă, aceasta se supune unei reacţii chimice numită derivatizare. Derivatizarea seleniului se poate realiza cu 2,3-diaminonaftalină (DAN). Compusul rezultat este fluorescent. Pe fig. 8a se prezintă densitograma unei probe de apă conţinând seleniu derivatizat. Se poate observa că reactivul de derivatizare, DAN, apare separat pe aceeaşi placă alături de compusul rezultat cu seleniul din apă. Repetându-se separarea cu mai multe probe cunoscute se obţin picuri cu

înălțimi diferite (fig. 8b). Limita de detecție este pentru această metodă de 250fg Se. Reprezentarea grafică a înălțimilor duce la curba de etalonare (fig. 8c).

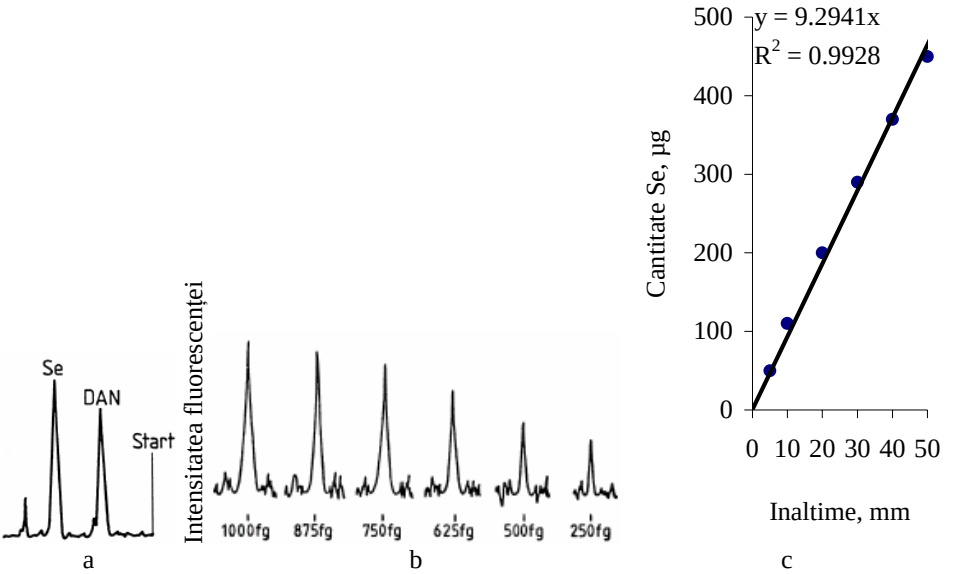


Fig. 8. (a) Aspectul unei densitograme a compusului fluorescent al seleniului DAN (1,2-diaminonaftalină); (b) Densitograme rezultate din măsurătorile de fluorescență ale produsului derivatizării seleniului din probe de apă cu 1,2-diaminonaftalină, în cantități crescătoare (1fg=10^{-12}g); (c) Aspectul unei curbe de etalonare în PC

Metoda PC este simplă şi ieftină dar, ca precizie şi exactitate, este adesea inferioară HPLC. În calitate de *metodă semicantitativă*, PC este o metodă competitivă şi în lipsa unei aparaturi performante (de exemplu HPLC) rămâne uneori singura alternativă. O analiză *semicantitativă* poate răspunde la întrebarea: *Este prezentă specia X într-o concentrație mai mare decât o concentrație limită, C?* De foarte multe ori răspunsul la această întrebare este suficient în practica curentă. Dar pentru monitorizarea automată a conținutului de poluanți din ape sau sol, pentru expertize sau pentru controlul alimentelor, doar metoda PC nu este suficientă.

Întrebări de verificare

1. Cu ce dispozitive se aplică probele pe placa cu strat subțire în PC?
2. Care adsorbenți se utilizează cu frecvență maximă în PC?
3. Ce metode de separare cromatografice sunt aplicabile în PC?
4. Pe ce bază se realizează migrarea fazei mobile prin stratul subțire de adsorbent, în varianta clasică?
5. Ce sunt camerele de developare şi de câte tipuri sunt acestea?
6. Unde se pot aplica probele pe plăcile cromatografice în variantele unidimensională şi bidimensională?
7. De ce s-au introdus straturile subțiri fluorescente?
8. Cum se pot observa componentele incolore pe placa cromatografică după eluare?
9. Ce este valoarea R_f?
10. Cum se realizează analiza calitativă în PC?
11. Care este cea mai exactă variantă de analiză cantitativă în PC?
12. Ce este o densitogramă şi la ce serveşte în analiza chimică?

A vedea lumea pentru un moment ca ceva bogat şi ciudat este propria recompensă a multora o descoperire
Edward M. Purcell, din lectura de decernare a premiului Nobel (11 Dec. 1952) pentru descoperirea RMN

Analiză spectrală nucleară

Rezonanță magnetică nucleară

Rezonanța este fenomenul de oscilație cu aceeaşi frecvență a doi oscilatori care transferă energie. În acest caz oscilatorii se numesc cuplați.

Fenomenul rezonanței magnetice nucleare se bazează pe proprietatea nucleelor de a prezenta moment magnetic. Nu toate nucleele însă posedă moment magnetic. Se pretează la o rezonanță magnetică acele nuclee care au moment magnetic [120,121].

Practic se poate obține *rezonanța magnetică nucleară* prin aplicarea unui câmp electromagnetic de frecvență variabilă şi observarea frecvenței la care nucleele magnetice intră în rezonanță cu câmpul indus.

Nucleele magnetice posedă un *moment unghiular de spin* m_ω care are o valoare cuantificată după formula:

$$m_\omega = \sqrt{I(I+1)} \cdot \frac{h}{2\pi} \qquad (1)$$

unde I este *numărul cuantic de spin* (numit simplu *spin*) poate lua valorile I = 0, ½, 1.

Valoarea numărului cuantic de spin I dă *numărul de orientări (stări) ale momentului magnetic al nucleului* față de o axă oarecare n_I:

$$n_I = 2 \cdot I + 1 \qquad (2)$$

Fiecare orientare a momentului magnetic se numeşte *componentă a momentului unghiular*.

Valorile orientărilor momentului magnetic al nucleului sunt notate cu m_I (numite *stări de spin* sau *stări*) şi sunt date de relația:

$$m_I = I, I-1, ..., -I \qquad (3)$$

iar valorile componentelor momentului unghiular sunt:

$$\omega_I = m_I \cdot \frac{h}{2\pi} \qquad (4)$$

Dintre elementele chimice, elemente cu număr cuantic de spin I = ½ sunt ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F, ^{31}P. ^{14}N are I = 1, iar ^{12}C şi ^{16}O au numărul cuantic de spin I = 0.

[120] Cerichelli Giorgio, Mancini Giovanna, *Role of Counterions in the Solubilization of Benzene by Cetyltrimethylammonium Aggregates. A Multinuclear NMR Investigation*, Langmuir, p. 182-187, Volume 16, Issue 1, January 11, 2000.

[121] Luchetti Luciana, Mancini Giovanna, *NMR Investigation on the Various Aggregates Formed by a Gemini Chiral Surfactant*, Langmuir, p. 161-165, Volume 16, Issue 1, January 11, 2000.

Starea cu $m_I = ½$ se notează cu α sau ↑ în timp ce starea cu $m_I = - ½$ se notează cu β sau ↓.

Componenta momentului magnetic pe axa Oz, notată μ_z este proporțională cu componenta momentului unghiular de spin nuclear pe această axă:

$$\mu_z = \gamma \cdot m_I \cdot \frac{h}{2\pi} \tag{5}$$

unde γ este un coeficient de proporționalitate numit *raport giromagnetic* al nucleului. Acesta depinde strict de tipul nucleului considerat şi valorile sale pentru câteva nuclee sunt redate în tabelul 1.

Tabelul 1. Valorile raportului giromagnetic γ şi factorului nuclear g_I pentru câteva nuclee

nucleu	^{1}n	^{1}H	^{2}H	^{13}C	^{14}N
γ	-3.826	5.586	0.857	1.405	0.404
g_I	$-1.83 \cdot 10^{8}$	$2.68 \cdot 10^{8}$	$4.10 \cdot 10^{7}$	$6.73 \cdot 10^{7}$	$1.94 \cdot 10^{7}$

Momentul magnetic se exprimă adesea prin factorul nuclear g_I (tabelul 5.1), corelat cu raportul giromagnetic γ şi magnetonul nuclear μ_N prin relația:

$$g_I = \frac{\gamma}{\mu_N} \cdot \frac{h}{2\pi}, \quad \mu_N = 5.051 \cdot 10^{-27}\ J \cdot T^{-1} \tag{6}$$

când relația (5) devine:

$$\mu_z = g_I \cdot m_I \cdot \mu_N \tag{7}$$

Valorile pozitive din tabelul 1 indică un moment magnetic paralel cu spinul iar valorile negative indică că momentul magnetic şi spinul sunt antiparaleli.

Într-un câmp magnetic B exterior cele 2·I+1 orientări ale nucleului au energii diferite, date de:

$$E_I = - \mu_z \cdot B = - g_I \cdot m_I \cdot \mu_N \cdot B \tag{8}$$

Adesea se folosește în notații frecvența Larmor ν_L:

$$\nu_L = \frac{\gamma \cdot B}{2\pi} \tag{9}$$

când ecuația (8) devine:

$$E_I = -m_I \cdot h \cdot \nu_L \tag{10}$$

Considerând un nucleu cu spin I = ½ diferența de energie $\Delta E_{\pm ½}$ care apare între cele două stări $m_I = \pm ½$ în prezența câmpului magnetic B este:

$$\Delta E_{\pm ½} = E_{-½} - E_{½} = 2 \cdot ½ \cdot h \cdot \nu_L = h \cdot \nu_L \tag{11}$$

În absența câmpului B (B = 0) frecvența Larmor ν_L se anulează (relația 9) şi diferența de energie $\Delta E_{\pm ½}$ este nulă (relația 11).

Relația (11) arată că un nucleu cu spin I = ½ va începe să rezoneze în prezența câmpului magnetic B atunci când este bombardat cu o radiație cu frecvența $\nu = \nu_L$.

Condiția:

$$\nu = \nu_L \tag{12}$$

se numește *condiție de rezonanță*.

Frecvența Larmor ν_L a nucleelor la câmpuri B folosite în mod uzual se situează în domeniul radio ($\nu_L \geq 10^{-1}$m) şi din acest motiv RMN este o tehnică de radiofrecvențe. Un spectrometru RMN constă dintr-un magnet care poate produce un câmp intens şi uniform şi una sau mai multe surse de radiație electromagnetică de radiofrecvență. Proba se rotește în interiorul magnetului cu aproximativ 15 Hz, pentru ca toate moleculele să fie supuse la acelaşi câmp mediu (fig. 1).

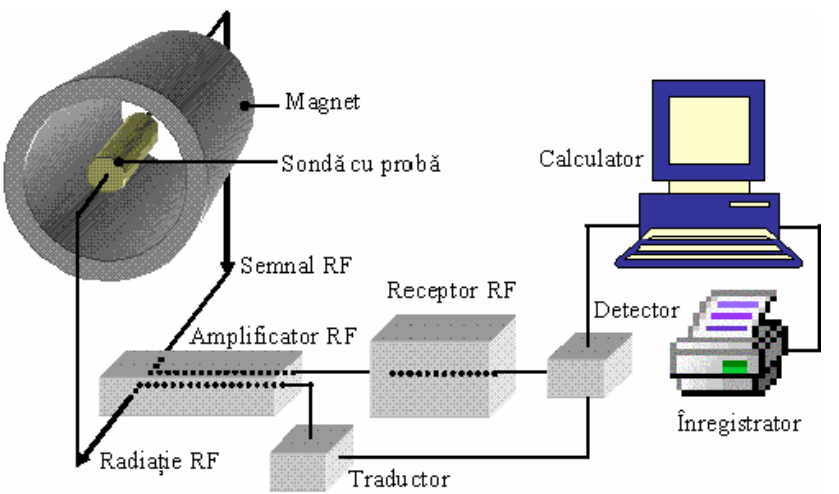


Fig. 1. Schema bloc a unui spectrometru RMN

Frecvent se folosesc magneți supraconductori care operează la temperatura heliului lichid (4K). Aceştia asigură câmpuri magnetice intense, care asigură câteva avantaje: simplifică forma spectrelor şi permite interpretarea lor mai uşoară (vezi *Structura fină*); viteza de preluare a energiei este mai mare într-un câmp mai intens datorită a doi factori: la câmpuri mari este mai mare diferența mai mare de populație între stările de spin (proporțională cu B); energia fiecărui foton absorbit este mai mare (proporțională cu B);

Deplasarea chimică

Electronii atomilor prezintă un spin electronic. Acesta interacționează la rândul lui cu câmpul B aplicat pentru a da *momentul unghiular electronic*, notat δB. Acest câmp suplimentar, manifestat *local* pe fiecare nucleu se exprimă prin:

$$\delta B = - \sigma \cdot B \qquad (13)$$

unde σ se numește *constantă de ecranare* pentru nucleul studiat. De obicei σ este pozitiv, dar poate fi şi negativ. Ceea ce se manifestă asupra nucleului B_{loc} este diferența dintre câmpul aplicat şi câmpul magnetic suplimentar:

$$B_{loc} = B + \delta \cdot B = (1-\sigma) \cdot B \qquad (14)$$

În prezența câmpului B_{loc} frecvența Larmor corespunzătoare este:

$$\nu_L = (1-\sigma) \cdot \frac{\gamma \cdot B}{2\pi} \qquad (15)$$

ceea ce face ca frecvența Larmor ν_L să fie diferită pentru același tip de nuclee situate în înconjurări diferite (după cum se ştie distribuția sarcinii electronice a atomului considerat depinde puternic de electronegativitățile elementelor şi grupărilor direct învecinate. Aceste frecvențe de rezonanță diferite se exprimă uzual prin mărimea numită *deplasare chimică*. Se definește deplasarea chimică ca diferența dintre frecvența de rezonanță a nucleului studiat şi un *standard de referință*. Standardul de referință pentru protoni ^1H este rezonanța protonilor din tetrametilsilan, $Si(CH_3)_4$, notat TMS. Motivul acestei alegeri este că TMS *se dizolvă fără reacție* în multe lichide [122-124].

Pentru alte nuclee se folosesc alte standarde de referință [125-128]. Pentru ^{13}C se folosește ca standard frecvența de rezonanță a ^{13}C din TMS [129], iar pentru ^{31}P frecvența de rezonanță a ^{31}P din H_3PO_4 85% soluție apoasă [130].

---

[122] Gerritz Samuel W., Andrea M. Sefler, *2,5-Dimethylfuran (DMFu): An Internal Standard for the "Traceless" Quantitation of Unknown Samples via 1H NMR*, Journal of Combinatorial Chemistry, p. 39-41, Volume 2, Issue 1, January 11, 2000.

[123] Shapiro Yury E., *^1H NMR Self-Diffusion Study of Morphology and Structure of Polyvinyl Alcohol Cryogels*; American Society, JCIS, p. 453-465, Volume 212, Issue 2.

[124] Wild J. M.; *Artifacts Introduced by Zero Order Phase Correction in Proton NMR Spectroscopy and a Method of Elimination by Phase Filtering*, American Society, JMRE, p. 430-436, Volume 137, Issue 2.

[125] Shao Chaoying, Miyazaki Yoshinobu, Matsuoka Shiro, Yoshimura Kazuhisa, Sakashita Hirofumi, *Complexation of Borate with Cross-Linked Polysaccharide Anion Exchanger: ^{11}B NMR and Adsorption Properties Studies*, Macromolecules, p. 19-25., Volume 33, Issue 1, January 11, 2000.

[126] Sham Simon, Wu Gang, *Solid-State ^{25}Mg NMR Study of Inner-Sphere Mg^{2+} Binding Complexes*, Inorganic Chemistry, p. 4-5, Volume 39, Issue 1, January 10, 2000.

[127] Drew Mark, Orton Edward, Krolikowski Paul, Salvino Joseph M., Kumar N. Vasant, *A Method for Quantitation of Solid-Phase Synthesis Using ^{19}F NMR Spectroscopy*; Journal of Combinatorial Chemistry, p. 8-9, Volume 2, Issue 1, January 11, 2000.

[128] Gaare Kristin, *Effects of La Exchange on NaY and NaX Zeolites As Characterized by ^{29}Si NMR*, The Journal of Physical Chemistry B, p. 48-54, Volume 101, Issue 1, January 2, 1997.

[129] Orendt Anita M., Facelli Julio C., Bai Shi, Rai Amarjit, Gossett Michele, Scott Lawrence T., Boerio-Goates Juliana, Pugmire Ronald J., Grant David M., *Carbon-13 Shift Tensors in Polycyclic Aromatic*

Diferența între frecvența de rezonanță a standardului şi frecvența de rezonanța a unui anumit nucleu creşte cu intensitatea B a câmpului magnetic aplicat.

Deplasările chimice sunt redate pe o scară relativă adimensională, numită scara δ, definită astfel:

$$\delta = \frac{\nu - \nu^0}{\nu^0} \cdot 10^6 \qquad (16)$$

unde ν^0 este frecvența de rezonanță a standardului.

Din perspectivă experimentală este important de ştiut la ce deplasare relativă față de referință va rezona un nucleu cu o deplasare chimică δ cunoscută. Cum frecvența de rezonanță nu depinde numai de imediata vecinătate a atomului, domeniul tuturor valorilor posibile de deplasare chimică ale unui nucleu dintr-o grupare formează un interval de deplasări chimice posibile. În fig. 2 sunt redate aceste intervale de deplasare chimică posibilă ale nucleului de hidrogen ^{1}H pentru câteva grupări, iar în fig. 3 sunt redate intervalele de deplasare chimică posibilă ale nucleului de carbon ^{13}C pentru câteva grupări frecvent întâlnite.

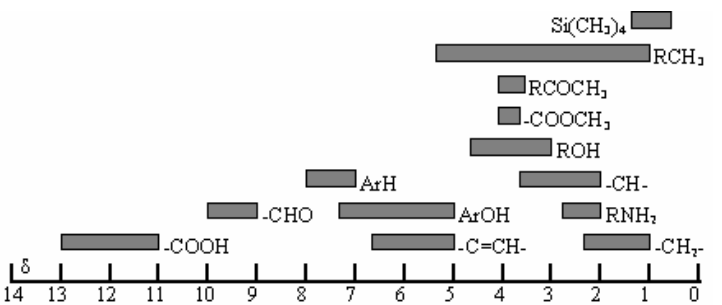


Fig. 2. Domeniul de deplasări chimice δ ale ^{1}H în diferite grupări funcționale

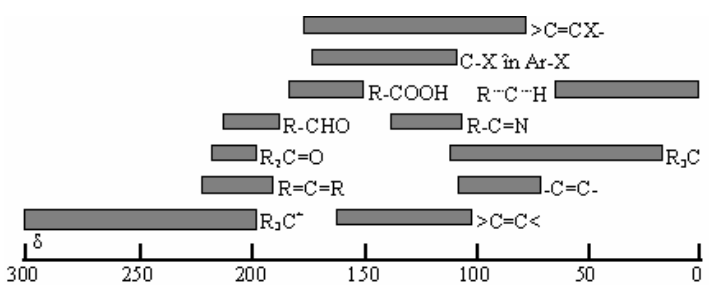


Fig. 3. Domeniul de deplasări chimice δ ale ^{13}C în diferite grupări funcționale

Un exemplu de spectru este redat în fig. 4, pentru etanol. Existența deplasării chimice justifică apariția semnalelor în spectru. Atomii de hidrogen, având diferite ecranări electronice

---

Compounds. 8. A Low-Temperature NMR Study of Coronene and Corannulene, The Journal of Physical Chemistry A, p. 149-155, Volume 104, Issue 1, January 13, 2000.

[130] Osegovic John P., Drago Russell S., *Measurement of the Global Acidity of Solid Acids by ^{31}P MAS NMR of Chemisorbed Triethylphosphine Oxide*, The Journal of Physical Chemistry B, p. 147-154, Volume 104, Issue 1, January 13, 2000.

pentru diferite poziții în moleculă, furnizează semnale diferite. Nici protonii aceleiaşi grupări nu sunt scutiți de discriminare, după cum se vede din spectru. În acest caz fiecare atom dă cel puțin o linie în spectru, unii atomi producând chiar două linii.

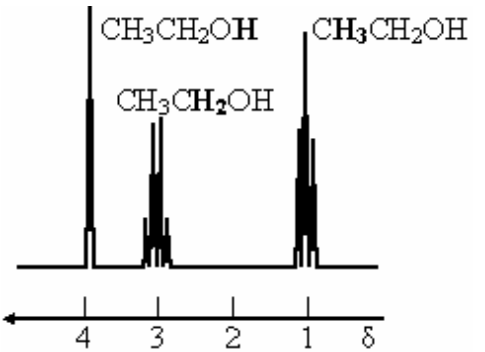


Fig. 4. Spectrul ^{1}H-RMN al etanolului cu atomii care furnizează semnalul în spectru îngroşați

Integrarea numerică a spectrului permite determinarea cantitativă a grupărilor în moleculă. Din acest punct până la identificarea structurii moleculare nu mai este decât o problemă de reconstrucție grupare cu grupare a ansamblului molecular [131].

Deşi constanta de ecranare σ este responsabilă pentru deplasarea chimică, este dificil de calculat aceasta. Formal, constanta de ecranare se poate considera ca suma a 3 contribuții:

$$\sigma = \sigma_{loc} + \sigma_{mol} + \sigma_{sol} \qquad (17)$$

unde σ_{loc} este contribuția electronilor atomului studiat, σ_{mol} este contribuția grupelor de atomi ce formează restul moleculei iar σ_{sol} este contribuția moleculelor de solvent.

[131] Pfrommer Bernd G., Mauri Francesco, and Louie Steven G., *NMR Chemical Shifts of Ice and Liquid Water: The Effects of Condensation*, Journal of the American Chemical Society, p. 123-129, Volume 122, Issue 1, January 12, 2000.

Structura fină

Scindarea rezonanțelor în linii individuale (fig. 4) se numeşte *structura fină*.

Fiecare nucleu magnetic contribuie la câmpul local al altor nuclee şi modifică astfel frecvența lor de rezonanță. Intensitatea interacțiunii produsă de un nucleu asupra altui nucleu este proporțională cu produsul celor doi spini şi este exprimată prin *constanta de cuplaj scalar J* şi se măsoară în hertzi. Constanta de cuplaj este independentă de intensitatea câmpului aplicat şi este o acțiune *reciprocă* a celor două nuclee, adică dacă nucleul A scindează linia de rezonanță a nucleului B cu constanta de cuplaj J_{AB} atunci şi nucleul B scindează linia de rezonanță a nucleului A cu aceeaşi valoare absolută J_{AB}.

Pentru a exprima constante de cuplaj între nuclee cu deplasări chimice semnificativ diferite se folosesc litere depărtate în alfabet (de exemplu A şi X) iar pentru constante de cuplaj între nuclee cu deplasări chimice apropiate se folosesc litere apropiate în alfabet (de exemplu A şi B).

Fie un sistem AX pentru care spinul are aceeaşi valoare I(A) = I(X) = ½. Datorită interacțiunii spin-spin cele două stări (+½ şi -½) vor da linii diferite în spectru pentru fiecare nucleu (A şi X). Aceste perechi de linii sunt centrate pe deplasarea chimică a fiecărui nucleu (fig. 5).

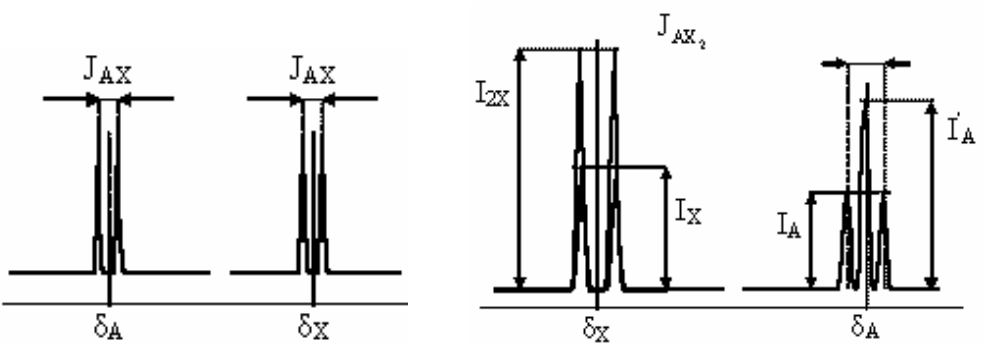


Fig. 5. Efectul cuplajului spin-spin asupra unui spectru AX şi intensitatea diferită a cuplajelor spin-spin în spectrele AX şi AX_2

Pentru un sistem AX_n (AX_2, AX_3, ...) la care nucleele au acelaşi spin I(A) = I(X) = ½ scindarea este tot un dublet, deoarece grupul de nuclee echivalente n·X rezonează ca un singur nucleu. Diferența cu cazul ilustrat în fig. 5 este redat în fig. 6, şi anume intensitatea semnalului este de n ori mai mare decât în specia AX. În spectrul AX_2 specia A va scinda în 3 semnale cu raportul I_A:I'_A:I_A = 1:2:1. De fapt semnalul I'_A este rezultatul suprapunerii a două semnale I_A aşa cum se poate observa din fig. 5.

Schema distribuției intensității semnalului în scindările de cuplaj spin-spin respectă distribuția dată de *triunghiul lui Pascal*. Astfel, n nuclee echivalente cu spinul ½ rezonează cu

un nucleu sau grup de nuclee echivalente după o schemă de scindare şi suprapunere a intensităților ca cea reprezentată în fig. 6a şi analog pentru nucleele cu I = 1 (fig. 6b) [132].

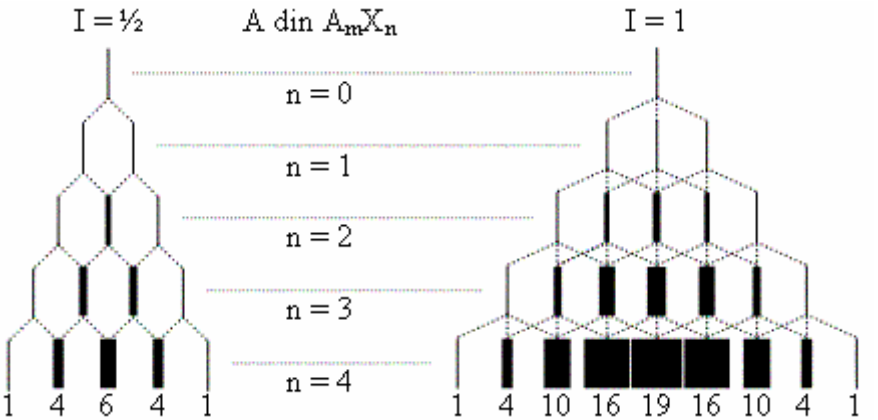


Fig. 6. Cuplaje spin-spin scindări şi suprapuneri pentru semnalul lui A din A_mX_n

Formulele de calcul pentru seriile din fig. 6 pot fi obținute cu ajutorul MathCad cu formulele: $N_{0,0} = 1$; n := 1,2..5; k := 0,1..4; $N_{n,k+1} = N_{n-1,k} + N_{n-1,k+1}$ pentru I = ½ şi respectiv: $M_{0,0} = 1$; n := 1,2..5; k := 0,1..8; $M_{n,k+2} = M_{n-1,k} + M_{n-1,k+1} + M_{n-1,k+2}$ pentru I = 1 când se obțin matricele:

M=

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
3	0	0	1	2	3	2	1	0	0	0	0
4	0	0	1	3	6	7	6	3	1	0	0
5	0	0	1	4	10	16	19	16	10	4	1

şi

$$N=\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 2 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 3 & 3 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 4 & 6 & 4 & 1 \end{bmatrix}$$

În mod analog se rezolvă şi scindarea şi deplasarea semnalului ce provine de la X din A_mX_n, cu deosebirea că *schema Pascal* se aplică de această dată pentru m.

[132] Ylihautala Mika, Vaara Juha, Ingman Petri, Jokisaari Jukka, Diehl Peter, *^{14}N and ^{2}H NMR Study of the Mesophases of Cetyltrimethylammonium Bromide in Formamide*, The Journal of Physical Chemistry B, p. 32-38, 101(1), 1997.

Nuclee echivalente

Un grup de nuclee sunt *echivalente chimic* dacă şi numai dacă: sunt legate printr-o operație de simetrie a moleculei; au aceleași deplasări chimice.

Nucleele sunt *echivalente magnetic* dacă şi numai dacă: sunt echivalente chimic; au interacțiuni spin-spin identice cu oricare alte nuclee magnetice din moleculă.

Diferența între echivalența chimică şi echivalența magnetică este ilustrată de moleculele CH_2F_2 şi $H_2C=CF_2$. În ambele molecule protonii sunt echivalenți chimic. Totuşi, în CH_2F_2 protonii sunt echivalenți magnetic. În $H_2C=CF_2$ protonii nu sunt echivalenți magnetic (fig. 7).

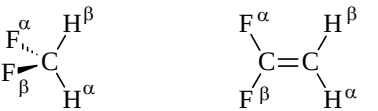


Fig. 7. Geometria moleculelor de CH_2F_2 şi $H_2C=CF_2$

Nucleele de ^{19}F sunt magnetice şi au spin I = ½. Datorită prezenței legăturii duble, orientarea spinilor este cea prezentată în fig. 8 şi simetria magnetică este anulată. Astfel, nucleul β de H se va afla cis față de nucleul α de F şi nucleul α de H va fi cis față de nucleul β de F ceea ce va face ca scindarea semnalului nucleului α de H să fie diferită de scindarea semnalului nucleului β de H.

Altă situație este relativ la protonii din R-CH_3 (fig. 8).

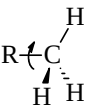


Fig. 8. Geometria grupării R-CH_3

Deşi cele trei nuclee sunt diferite din punct de vedere magnetic, *practic* nu se va înregistra nici o scindare în spectrul RMN datorită *rotației rapide* a grupei CH_3 în jurul legăturii R-C, ceea ce va media diferențele.

Aplicație: interpretarea unui spectru RMN

Să considerăm spectrul ^{1}H-RMN din fig. 9.

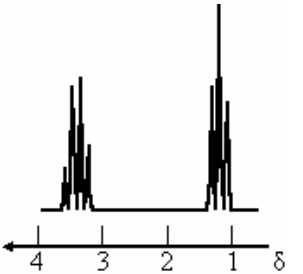


Fig. 9. Interpretarea unui spectru ^{1}H-RMN

Algoritmul de interpretare al spectrului este următorul:

÷ se analizează structura fină a spectrului

Pentru spectrul din fig. 9 se constată că primul grup de scindări (la δ=3.4) este format din n = 4 linii situate la cuplaj spin-spin egal. Ea provine (conform schemei din fig. 6a) de la o scindare într-un câmp provenit de la n-1 = 3 nuclee de hidrogen echivalente. Al doilea grup de scindări (la δ = 1.2) este format din n = 3 linii situate la cuplaj spin-spin egal. Ea provine (conform schemei din fig. 6a) de la o scindare într-un câmp provenit de la n-1 = 2 nuclee de hidrogen echivalente. Cele două grupe sunt învecinate: AH_2-BH_3.

÷ se analizează deplasările chimice

Se compară valorile din fig. 9 cu valorile prescrise în fig. 2, și se ține seama că valența maximă este 4. Rezultă că nucleele A și B sunt de carbon și atomul A este legat de un nucleu nemagnetic și care produce mărirea deplasării chimice a grupării -CH_2- de la 2.3 la 3.4 (sărăcire în electroni a învelișului electronic). Acesta este oxigenul.

÷ se reconstituie structura moleculară ținând seama de saturarea legăturilor

Structura ce rezultă din aplicarea pașilor anteriori pentru spectrul din fig. 9 este -O-CH_2-CH_3. Se ține seama că nu mai apar alte deplasări în spectru (de exemplu pentru prezența unui atom de hidrogen legat de oxigen) așa încât se completează structura moleculară cu grupări care deja au semnal în spectru, adică CH_2 și CH_3.

Structura moleculară cea mai probabilă este deci: CH_3-CH_2-O-CH_2-CH_3.

O problemă care s-ar putea pune este cum se modifică forma spectrului din fig. 9 dacă se aplică un câmp magnetic B de 10 ori mai intens. După cum s-a demonstrat, în acest caz deplasările chimice rămân aceleași (ec. 16), tot așa cum rămân neschimbate și constantele de cuplaj spin-spin. Ceea ce însă se modifică este frecvența de rezonanță (nereprezentată în spectrul din fig. 9).

Tehnici RMN în puls şi bidimensionale

Metodele moderne de detectare a separărilor energetice între stările de spin nuclear folosesc o variantă modificată de spectrometrie RMN, numită *RMN de puls* [133,134]. În loc să se aplice o radiație electromagnetică de frecvență variabilă pentru a înregistra rezonanțele se aplică o stimulare energetică puternică, care excită spinii nucleari pe stările superioare, după care se înregistrează radiația emisă de spinii nucleari în timp ce ei revin pe starea fundamentală.

Un spectru RMN conține o mulțime de informații, iar dacă sunt prezenți mai mulți protoni, el este foarte complex, şi frecvent se poate acoperi structura fină a diferitelor grupe de linii. Complexitatea spectrului se reduce dacă se folosesc două axe pentru reprezentarea datelor, cu rezonanțele diferitelor grupe plasate la poziții diferite pe a doua axă de date. Separarea aceasta este posibilă cu ajutorul *RMN bidimensională*. Studii de relaxare [135] de spin în tehnica RMN în puls au arătat că un *experiment de ecou de spin* refocalizează spinii care sunt într-o înconjurare constantă. Dacă 2 spini se găsesc în înconjurări cu deplasări chimice diferite, ei sunt refocalizați şi se obține o singură linie. Aceasta înseamnă că se pot elimina deplasările chimice din spectru, rămânând doar scindările şi suprapunerile. Studii de decuplare [136] au arătat că se pot îndepărta efectele cuplajelor spin-spin. Combinarea celor două tehnici face ca cu ajutorul transformatei Fourier să se separe cuplajul de spin într-o dimensiune şi deplasarea chimică în cealaltă dimensiune a reprezentării spectrului [137]. Lucrările moderne de RMN folosesc spectroscopia de corelație (COSY), în care se alege secvența de pulsuri în funcție de timpii de relaxare [138].

[133] Schwartz J., *A graduate description of pulse RMN (time domain)*, J. Chem. Edu., 65, 752, 1988.
[134] Schwartz J., *A graduate description of pulse RMN (time domain)*, J. Chem. Edu., 65, 959, 1988.
[135] Wink J., *Spin-net relaxation times in 1H-RMN spectroscopy*, J. Chem. Edu., 66, 810, 1989.
[136] Sanders J. K. M., Hunter B. K., *Modern NMR spectroscopy*, Oxford University Press, 1987.
[137] King R. W., Williams K. R., *Fourier transform in chemistry. Part 4. RMN: Bidimensional methods*, J. Chem. Edu., 67, A125, 1990.
[138] Haworth O., *Special edition of RMN spectroscopy*, Chemistry in Britain, 29, 589, 1993.

RMN în fază solidă

În mod uzual tehnicile RMN se aplică în fază lichidă, când proba este dizolvată într-un solvent corespunzător. Există situații însă când dizolvarea poate fi un inconvenient major. Astfel, multe specii sunt de interes în fază solidă şi este important de determinat structura şi dinamica lor în fază solidă [139]. Polimerii sintetici sunt un astfel de caz, când din RMN în fază solidă se pot obține informații asupra structurii moleculelor, conformației acestora şi mişcărilor diferitelor părți ale lanțului [140].

Substanțe anorganice ca zeoliții folosiți ca site moleculare şi catalizatori selectivi pot fi studiate cu ajutorul RMN în fază solidă când se obțin informații de natură structurală care nu pot fi obținute din difracția de raze X [141]. Principala dificultate în aplicarea RMN în fază solidă este slaba rezoluție a semnalului probelor solide şi prezența benzilor formate prin suprapunerea a foarte multe linii. Faza solidă în general nu permite rotația moleculară care să absoarbă energia transmisă în puls (excepție fac *cristalele plastice* în care moleculele continuă să se rostogolească). Din acest motiv, timpii de relaxare spin-rețea sunt foarte mari iar timpii de relaxare spin-spin sunt foarte mici. Pentru că benzile sunt largi, realizarea saturării necesită puteri foarte mari de radiofrecvență.

Comparativ, dacă RMN în puls la lichide foloseşte surse de radiofrecvență de câțiva wați, RMN în puls pentru solide necesită puteri de câțiva kilowați [142].

[139] Fyfe Colin A., Lewis Andrew R., *Investigation of the Viability of Solid-State NMR Distance Determinations in Multiple Spin Systems of Unknown Structure*, The Journal of Physical Chemistry B, p. 48-55, Volume 104, Issue 1, January 13, 2000.

[140] Fuchs Beate and Scheler Ulrich, *Branching and Cross-Linking in Radiation-Modified Poly(tetrafluoroethylene): A Solid-State NMR Investigation*, Macromolecules, p. 120-124, Volume 33, Issue 1, January 11, 2000.

[141] Ebsworth A. V., Rankin D. W. H., Cradock S., *Structural methods of inorganic chemistry*, Blackwell Scientific, Oxford, 1992.

[142] Li Y., Wolters A. M., Malawey P. V., Sweedler J. V., and Webb A. G., *Multiple Solenoidal Microcoil Probes for High-Sensitivity, High-Throughput Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Analytical Chemistry, p. 4815-4820, Volume 71, Issue 21, November 1, 1999.

Rezonanța electronică de spin

Și nivelele electronice se scindează în câmp magnetic. În mod analog cu relația (8) se obține nivelul energetic al unui spin electronic în câmp magnetic:

$$E_e = g_e \cdot m_s \cdot \mu_B \cdot B \qquad (18)$$

unde g_e este factorul electronic și are valoare de constantă universală, $g_e = 2.00232$, μ_B este magnetonul Bohr $\mu_B = 9.27402 \cdot 10^{-24} J \cdot T^{-1}$ iar m_s este *orientarea momentului magnetic al electronului* (numite *stări de spin* sau *stări*) și are valorile $m_s = \pm ½$. Starea cu $m_s = ½$ se notează cu α sau ↓ în timp ce starea cu $m_s = - ½$ se notează cu β sau ↑ (fig. 10).

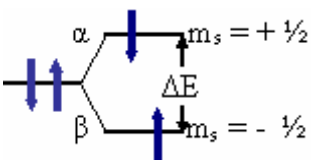
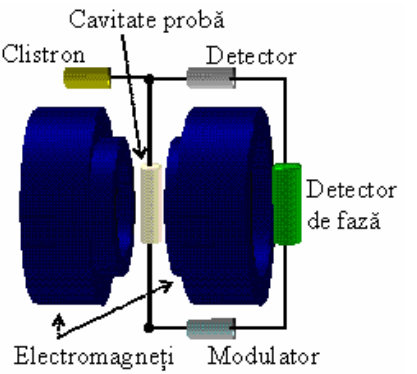


Fig. 10. Nivelele de spin electronic în câmp magnetic

Fig. 11. Schema bloc a unui spectrometru RES



Așa cum arată ecuația (18), aplicarea câmpului magnetic B va duce la despicarea nivelului energetic al orbitelor electronice (fig. 10) și separarea între cele 2 nivele este:

$$\Delta E = E_e(\alpha) - E_e(\beta) = g_e \cdot \mu_B \cdot B \qquad (19)$$

Dacă o probă în câmp magnetic este expusă unei radiații electromagnetice, rezonanța va avea loc când $h\nu = \Delta E$. *Rezonanța electronică de spin* (RES) se aplică moleculelor ce conțin electroni impari [143] Se aplică o radiație electromagnetică de frecvență fixă ν (radiație monocromatică) și se variază intensitatea câmpului magnetic B.

Uzual se folosesc radiații electromagnetice cu frecvența de 10GHz (10^{10}Hz) și câmpuri magnetice cu o intensitate de 0.3T. Pentru o radiație cu frecvența $\nu = 10^{10}$Hz, lungimea de undă este $\lambda = c/\nu = 3$cm, și radiația este în domeniul microundelor. Din acest motiv, RES este o tehnică de microunde (fig. 11). Tehnicile de rezonanță magnetică prezentate necesită o aparatură sofisticată și condiții de lucru deosebite și din acest motiv în sinteza și caracterizarea de noi compuși deseori se efectuează o analiză preliminară a *topologiei moleculare* prin studii de corelație [144].

---

[143] Subramanian S., Murugesan R., Devasahayam N., Cook J. A., Afeworki M., Pohida T., Tschudin R. G., Mitchell J. B., Krishna M. C., *High-Speed Data Acquisition System and Receiver Configurations for Time-Domain Radiofrequency Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy and Imaging*, American Society, JMRE, p. 379-388, Volume 137, Issue 2.

[144] Diudea Mircea, Gutman Ivan, Jäntschi Lorentz, *Molecular Topology*, Nova Science, Huntington, New York, 332 p., 2001, ISBN 1-56072-957-0, http://www.nexusworld.com/nova/1271.htm.

Dacă torturezi datele suficient, acestea îți vor mărturisi aproape totul
Fred Menger [145]

Prelucrarea datelor rezultate din măsurători

Nimic nu este mai intolerabil decât să-ți admiți ție însuți propriile tale erori
Ludwig van Bethoven (1770 - 1827)

Valori medii şi erori

Medii

Dacă se repetă de n ori o măsurătoare, făcută asupra aceleiaşi probe, obținându-se rezultatele X_i, se observă că valorile individuale sunt diferite. Conform convențiilor matematicii, rezultatele măsurătorii respective constituie o *variabilă aleatoare* [146]. Pentru a exprima rezultatul unei variabile de acest tip, practica cea mai acceptată este aceea de a se prezenta, în locul tabelului valorilor individuale obținute experimental, una din *valoarile medii*.

Fie X o mulțime de n valori x_1, x_2, …, x_n. Pentru calculul *valorii medii*, cei mai folosiți indicatori în practica prelucrării statistice a datelor sunt următorii:

Media Aritmetică, AM(X), dată de:

$$AM(X) = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n} \tag{1}$$

De exemplu pentru două valori x_1 şi x_2:

$$AM(X) = \frac{x_1 + x_2}{2}$$

Media Geometrică, GM(X), obținută din expresia:

$$GM(X) = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^{n} x_i} \underset{x_i>0}{=} \exp(AM(\ln(X)) \tag{2}$$

În cazul unui şir de două valori x_1 şi x_2 media geometrică se calculează:

$$GM(X) = \sqrt{x_1 \cdot x_2}$$

De notat că pentru n par, expresia pentru GM poate fi nedeterminată, atunci când produsul Πx_i este negativ.

Media Armonică, HM(X), dată de:

$$HM(X) = n \Big/ \sum_{i=1}^{n} \frac{1}{x_i} = 1/AM(1/X) \tag{3}$$

[145] http://www.emory.edu/CHEMISTRY/faculty/menger.html
[146] *alea* = zar în l. latină

În cazul unui şir de două valori x_1 şi x_2 media armonică se calculează:

$$HM(X) = \frac{2}{\frac{1}{x_1}+\frac{1}{x_2}}$$

Media Euleriană, EM(X), se calculează după ecuația:

$$EM(X) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} x_i^2}{n}} = \sqrt{AM(X^2)} \tag{4}$$

iar în cazul unui şir de două valori x_1 şi x_2 media eulerianã se calculează:

$$EM(X) = \sqrt{\frac{x_1^2 + x_2^2}{2}}$$

Mediana, m(X), este numărul:

$$m(X) = \begin{cases} \left(X_{\pi(\frac{n}{2})} + X_{\pi(\frac{n}{2}+1)} \right) \Big/ 2, & \text{pentru n par} \\ X_{\pi(\frac{n+1}{2})}, & \text{pentru n inpar} \end{cases} \tag{5}$$

aici π însemnând că X_π este şir ordonat ale valorilor x_i adică valorile sunt aranjate prealabil într-o ordine crescătoare (π *permutare* a şirului de numere 1..n).

În general, M(X) semnifică oricare dintre valoarile medii menționate (1-5).

Moda $\breve{X}$ reprezintă valoarea din şir care respectă condiția ca frecvența sa de apariție f_i sa fie maximă:

$$\breve{X} = \left\{ X_i | f_i = \sup\{f_j, 1 \le j \le n\} \right\} \tag{6}$$

Anumite relații statistice fac apel la această valoare.

Trebuie menționat că valorile medii nu dau aceeaşi valoare dar întotdeauna acestea sunt poziționate astfele încât:

$$\min(X) \le HM(X) \le GM(X) \le AM(X) \le EM(X) \le \max(X) \tag{7}$$

fiind toate egale între ele doar pentru şirul banal: $X_1 = ... = X_n$.

Media aritmetică AM(X), armonică HM(X) şi eulerianã EM(X) sunt cazuri particulare (p = 1, p = -1, şi respectiv p = 2) al mediei *putere* (sau *Hölder*) PM(X):

$$PM(X,p) = \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} X_i^p \right)^{1/p} \tag{8}$$

Mediile artimetică AM(X), armonică HM(X) şi geometrică GM(X) sunt cunoscute sub numele de mediile *pitagorice*, datorită proprietății acestora ilustrate de figura 1.

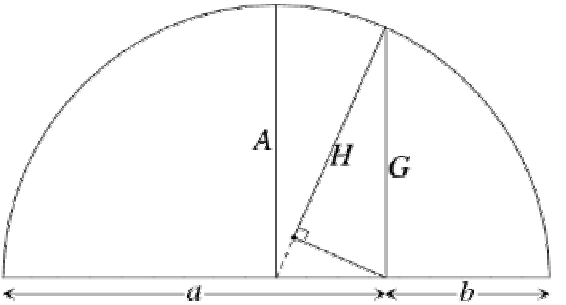


Figura 1. Mediile aritmetică A, armonică H şi geometrică G prinse de triungiul lui Pitagora

În fapt, în relația (7) mai există un termen (să-l numim termen central), şi anume media aritmetico-geometrică AGM(X), definită recursiv de relațiile (9):

$$\begin{aligned} &AGM(X,0) = (AM(X), GM(X)); \\ &AGM(X,k+1) = (AM(AGM(X,k)), GM(AGM(X,k))), k \geq 1; \\ &AGM(X) = AGM(X,\infty) \end{aligned} \quad (9)$$

şi cei doi termeni din definirea recursivă a AGM(X) converg unul spre celălalt şi spre valoarea limită AGM(X) când $k \to \infty$.

Cu AGM(X), relația (7) devine:

$$\min(X) \leq HM(X) \leq GM(X) \leq AGM(X) \leq AM(X) \leq EM(X) \leq \max(X) \quad (10)$$

Legat de termenul central AGM(X), în 30 mai 1799 Gauss a descoperit că:

$$AGM(1,\sqrt{2}) = \frac{2}{\pi}\int_0^1 \frac{dt}{\sqrt{1-t^4}} = \frac{\Gamma^2(1/4)}{(2\pi)^{3/2}} \quad (11)$$

unde funcția Γ este extensia funcției Γ(n) = (n-1)! la numere reale (numită forma integrală Euler), şi anume acea funcție care respectă relația Γ(x) = (x-1)Γ(x-1):

$$\Gamma(x) = \int_0^\infty t^{x-1}e^{-t}dt \quad (12)$$

Eroarea

Presupunând că măsurătorile se fac asupra unei probe cunoscute, cu valoarea adevărată A, se poate exprima pentru fiecare determinare individuală o *eroare absolută* (individuală) notată ε_i definită prin relația:

$$\varepsilon_i = X_i - A \quad (13)$$

Aceasta poate fi negativă (când $A > X_i$), zero sau pozitivă. Şi în cazul în care variabila este o valoare medie, se exprimă eroarea absolută a acesteia (ε), analog:

$$\varepsilon = \overline{X} - A \quad (14)$$

şi poartă numele de *eroare medie*.

Erorile se pot clasifica în funcție de proveniența lor în *erori întâmplătoare* (provocate de numeroase cauze minore si imposibil de controlat), *erori sistematice* care se evaluează în raport cu o valoare adevărată (acceptată pe baza unui etalon de referință) şi *erori grosolane* provocate de greşeli mari (scăparea probei pe jos, erori de calcul etc.).

Pentru a se putea observa mai bine semnificația dimensiunii erorii în raport cu valoarea măsurată se mai utilizează o altă mărime - *eroarea relativă*, notată adeseori δ. Aceasta se calculează independent de semn şi se exprimă prin relația:

$$\delta = \frac{|X - A|}{A} \tag{15}$$

unde cu X s-a o valoare măsurată notat fie x_i fie $\overline{X}$. De exemplu, când X = 2A se poate vedea că δ = 1. Pentru a se putea exprima raportul care există între valoarea erorii relative (δ) şi cea adevărată (A) în părți din 100 se recurge şi la o exprimare procentuală prin *eroarea relativă procentuală* notată δ(%), care este legată de prima prin: δ(%) = δ·100.

Atâta timp cât legile matematicii se referă la realitate, acestea nu sunt sigure;
când acestea sunt sigure, nu se referă la realitate
Albert Einstein (1879-1955)

Cifre semnificative şi rotunjirea rezultatelor

Orice măsurătoare sau rezultat experimental *trebuie înregistrat sau prezentat cu un număr corect de cifre semnificative*. Acest rezultat - număr este totodată un indicator al preciziei analizei chimice iar un număr prea mare de cifre ar da o imagine falsa asupra rezultatului.

Prin definiție, *numărul de cifre semnificative reprezintă numărul de cifre dintr-un număr, în afară de zerourile din fața sau de la coada numărului respectiv.* De exemplu, numărul 2.718 are 4 cifre semnificative iar 96.496 are 5 cifre semnificative. Dar, numărul 0.31910 are doar 4 cifre semnificative (deoarece primul şi ultimul zero nu seconsidera semnificative) sau numărul 0.000408 are trei cifre semnificative (zero dintre 4 și 8 nefiind în fața sau la coada numărului respectiv se consideră). Una dintre sursele de confuzie o constituie adesea zerourile din coadă. De aceea se preferă scrierea sub formă exponențială când se prezintă mai clar numărul de cifre semnificative. De exemplu dacă un număr rezultat dintr-o măsurătoare este scris:

÷ $2 \cdot 10^{-3}$ - înseamnă că acesta are o singură cifră semnificativă,

÷ $2.0 \cdot 10^{-3}$ - înseamnă că acesta are două cifre semnificative (doi şi zero),

÷ $2.00 \cdot 10^{-3}$ - înseamnă că acesta are trei cifre semnificative.

Dacă nu se specifică nimic, precizia se consideră ±1 din numărul respectiv, adică incertitudinea se referă la ultima cifră scrisă.

Când se efectuează calcule există procedee de calcul a incertitudinii rezultatului prezentate în cele ce urmează într-un capitol special dedicat *propagării erorilor prin calcule.*

În astfel de cazuri, după efectuarea obişnuită a calculului se va rotunji rezultatul la numărul necesar de cifre semnificative în conformitate cu rezultatul evaluării acestor erori:

÷ În cazul *adunării şi scăderii* există o regulă mai simplă, anume *rezultatul trebuie să aibă acelaşi număr de cifre semnificative cu cel mai imprecis număr implicat în calcul*.

De exemplu,

$$14.72 + 1.4331 - 0.0235 = 16.13$$

pentru că primul număr 14.72 este cel mai imprecis.

÷ În cazul *înmulțirii și împărțirii* numărul de cifre semnificative trebuie determinat în prealabil. Acest număr se propagă prin calcule ca şi cum s-ar propaga eroarea. Rezultatul calculului poate fi sintetizat prin regula: *precizia rezultatului nu poate fi mai bună decât rădăcina pătrată din suma pătratelor erorii relative*.

De exemplu dacă o măsurătoare are drept rezultat 52.3 unități oarecare înseamnă că eroarea este de ±0.1 unități ceea ce ar corespunde unei erori relative de 0.1/52.3 adică de 0.00191. Dacă intenționăm să ridicăm acest număr la pătrat se va obține eroarea relativă, $\delta = 1.41 \cdot 0.00191$. Dar cum $52.3^2 = 2735.29$, eroarea relativă calculată corespunde de fapt unei erori absolute de

$$2735.25 \cdot 0.00271 = 7.4 = 10 \text{ unități}$$

Aşadar, limita preciziei acestei determinări este 10 iar rezultatul se va prezenta $2.74 \cdot 10^3$. Dar cum în practică acest mod de a proceda este incomod se poate renunța la această cale. Dar se va ține cont că rezultatul trebuie să aibă *cel mult acelaşi număr de cifre semnificative cu cele două cifre supuse înmulțirii*. Sau şi mai bine se poate urma regula de rotunjire a rezultatului la acelaşi număr de cifre semnificative cu cea mai imprecisă dintre cantitățile implicate în calcule.

Referitor la rotunjiri, dacă după ultima cifră semnificativă mai apare un număr mai mare ca 5, aceasta se va rotunji prin adaus, dacă aceasta este o cifră mai mică decât 5, rotunjirea se face prin scădere. Când ultima cifra este exact 5 se execută rotunjirea în funcție de cifra precedentă acesteia. Dacă precedenta este impară se rotunjește prin adaus iar dacă cifra precedentă este pară, prin scădere, pentru a se media efectele rotunjirilor.

Nu pot dovedi nimic cu statistica decât adevărul.
GEORGE CANNING
Om de stat englez
(1770 - 1827)

Elemente de statistică

Prelucrarea datelor rezultate din măsurători prin analize instrumentale este foarte strâns legată de statistica matematică prin caracterul aleator [147] al acestora. Există două ramuri ale statisticii aplicate, statistica descriptivă şi statistica inductivă.

Statistica descriptivă este utilizată pentru descrierea naturii datelor experimentale.

Statistica inductivă este utilă în practică pentru ca datele înregistrate conform statisticii descriptive să poată căpăta un sens practic, anume o afirmație, o prezicere sau o decizie referitoare la a cestea. Deci, rezultatele se comunică în conformitate cu regulile statisticii descriptive iar utilizând statistica inductivă se interpretează în final rezultatele.

Prin natura măsurătorilor instrumentale acestea implică apariția unor erori. Acestea se deosebesc şi prin implicațiile statistice ale acestora:

÷ Erorile sistematice:
  ÷ Indică faptul că metoda nu se poate aplica fără o prealabilă corecție;
  ÷ Sunt caracterizate prin aceea că erorile măsurătorii *au aceeaşi mărime şi acelaşi sens*.
÷ Erorile întâmplătoare:
  ÷ Își au originea în limitele metode (performanțele tehnice) care duc la o lipsă de precizie a acestora;
  ÷ *Pot fi tratate şi prelucrate statistic*;
÷ Erorile grosolane:
  ÷ Nu au soluție şi *implică repetarea analizei* (cu evitarea respectivei erori).

Statistica asociază oricărui eveniment [148] o anumită frecvență de apariție, adică un număr care indică cât de des se produce acel eveniment. Probabilitatea este limita spre care tinde o frecvență la un număr foarte mare sau infinit de încercări. De exemplu, dacă aruncăm o singură dată un zar (cu fețele numerotate de la 1 la 6) probabilitatea de apariție a unei fețe este 1/6. Deci, din cele 6 evenimente posibile - apariția uneia dintre cele 6 cifre - apariția unei anumite fețe, să zicem a cele cu cifra 2, este un eveniment. Practic, după un număr foarte mare de încercări, frecvențele de apariție vor fi foarte apropiate de probabilitățile de apariție al fiecăreia dintre fețe, lucru ilustrat în fig. 1.

[147] *Caracter aleator* se atribuie unui fenomen întâmplător sau supus legilor hazardului.
[148] Se poate asocia măsurătoarea instrumentală care duce la un rezultat cu un eveniment aleator.

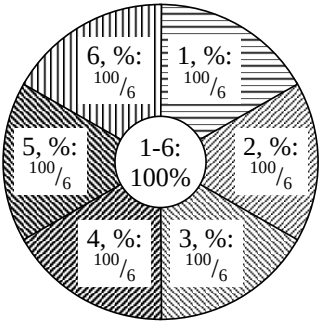


Fig. 1. Probabilităţile de apariţie a unuia dintre numerele de pe feţele unui zar cu 6 feţe (1/6)

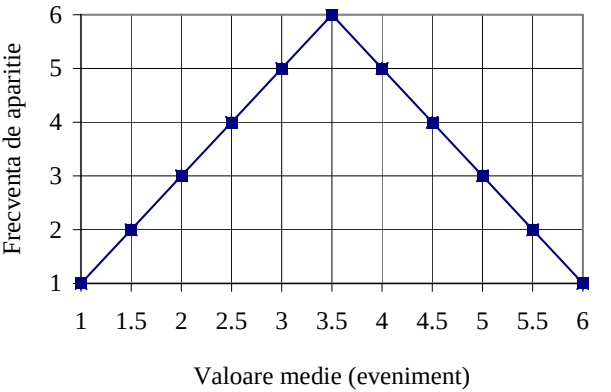


Fig. 2. Frecvenţa de apariţie a mediei numerelor de pe feţele a două zaruri

Dacă considerăm că aruncăm două zaruri deodată, probabilitatea de apariţie a valorii medii pentru cele două zaruri (aruncate tot o singură dată) este un alt eveniment având probabilitatea ilustrată pe fig. 2. De exemplu apariţia feţelor 6 pe ambele zaruri are probabilitatea 1/6 la fiecare zar, deci $(1/6)^2 = 0.028$. Se poate observa că în acest caz lucrurile se schimbă, apărând un maxim la 3.5.

Dacă mărim numărul de zaruri foarte mult, curba probabilităţii de apariţie a valorii medii ieşite tinde către *distribuţia normală a lui Gauss*. Aceasta are forma din fig. 3. Funcţia din matematică (aici *distribuţia Gauss*) amintită are expresia:

$$P(x,\mu,\sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma}\exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \qquad (16)$$

unde x ia valori pe domeniul $[-\infty, +\infty]$ iar valorile μ şi σ sunt constante pozitive.

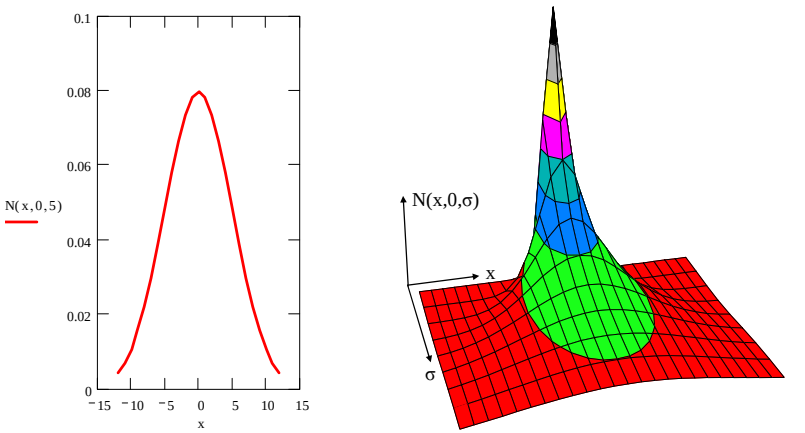


Fig. 3. Aspectul unei distribuţii normale Gauss N(x,0,5) - adică $\mu = 0$ şi $\sigma = 5$, graficul din stânga şi N(x,0,σ) cu $-12 \le x \le 12$ şi $1 \le \sigma \le 9$ - adică $\mu = 0$, graficul din dreapta)

În statistică P(x, μ, σ) mai poartă denumirea de *densitate de probabilitate*. Această distribuție mai poate fi simbolizează N(x,μ,σ) pentru o reprezentare prescurtată iar uneori notația N(μ,σ) se folosește pentru a exprima faptul că o anumită funcție are proprietățile amintite mai sus. Valoarea constantă μ poartă numele de valoare medie (sau medie), reprezentând media tuturor evenimentelor iar σ poartă numele de deviație (sau abatere) standard - o măsură a împrăştierii valorilor x în jurul mediei.

Pentru un număr finit de măsurători (evenimente), adică în condițiile unor variații pur întâmplătoare valorile acestor constante, media (μ) şi deviația standard (σ) se calculează astfel:

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n} \; ; \; \sigma = \sqrt{\sigma^2} \; ; \; \sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \mu)^2}{n} \qquad (17)$$

unde x_i este o determinare individuală iar n reprezintă numărul total de determinări.

Cazul numărului mare de măsurători

Dacă considerăm o măsurătoare instrumentală, în presupunerea că se face un număr foarte mare de măsurători (n>100), se obține adesea o distribuție a rezultatelor în jurul mediei apropiată de distribuția normală. O reprezentare idealizată pentru o rezultatul unei analize instrumentale cu media 12 μg şi abaterea standard de σ = 4 μg este redată în fig. 4.

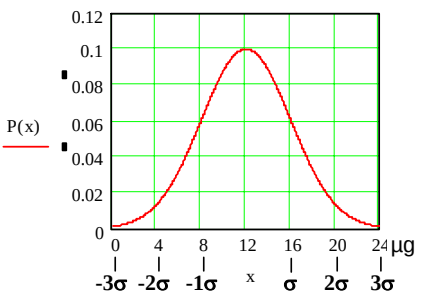


Fig. 4. Aspectul distribuției unui rezultat analitic x, cu media μ = 12μg şi abaterea standard de σ = 4μg; valoarea funcției pentru x=μ±σ - punctele de inflexiune ale graficului acesteia

Se constată că valorile σ delimitează nişte suprafețe ale ariei de sub curbă (v. fig. 4), anume ariile corespunzătoare:

÷ ± 1σ conțin 68% din toate datele;

÷ ± 2σ conțin 95.5% din toate datele;

÷ ± 3σ conțin 99.7% din toate datele.

În concluzie pentru seturi mari de date:

÷ se poate utiliza curba de distribuție normală pentru a se prezice cât de probabil are loc un anumit eveniment;

÷ această distribuție furnizează o metodă utilă pentru controlul de calitate industrial, unde de regulă se întâlnesc seturi mari de date.

Cazul numărului redus de măsurători

Pentru caracterizarea unor seturi reduse de date se folosesc alte mărimi - *media de selecție*, notată $\bar{x}$, și *dispersia de selecție*, s^2:

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^{n} x_i/n\,,\ s^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left(x_i - \bar{x}\right)^2}{n-1}\,,\ s = \sqrt{s^2},\ s^2 = \sigma^2 n/(n-1) \qquad (18)$$

Cuvântul *selecție* scoate în evidență faptul ca din infinitatea posibilă (teoretic) de măsurători s-au ales doar *o parte* - care poartă numele de *selecție (eșantionare)*. Deosebirea față de cazul numărului mare de măsurători este adesea minoră și de multe ori se renunță la cuvântul selecție pentru mai multă simplitate. Acest caz este cel mai frecvent întâlnit în practică.

În cazurile măsurătorilor analitice instrumentale apar, în mod firesc, următoarele întrebări:

÷ Proba de analizat este reprezentativă pentru întreaga populație? Cu alte cuvinte valorile se distribuie în jurul mediei pur întâmplător sau această distribuție este *deviată* - termen utilizat de statistică pentru a indica un factor cu influență semnificativă (vezi Anexa V).

÷ Dacă am realizat o selecție neîntâmplătoare sau *deviată* din mulțimea tuturor analizelor posibile, diferențele observate afectează rezultatul *semnificativ* sau nu.

Pentru a se putea verifica statistic apariția unor valori sau rezultate deviate, în afara mediei de selecție și a deviației standard de selecție menționate anterior, se mai utilizează: *numărul de grade de libertate* df (in locul valorii n), *abaterea standard a mediei de selecție* $s_{\bar{x}}$, *coeficientul de variație* CV, *abaterea standard relativă* RSD:

$$df = n\text{-}1^{*},\ s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}},\ CV = \frac{s_{\bar{x}}}{\bar{x}},\ RSD = \frac{100 \cdot s_{\bar{x}}}{\bar{x}} \qquad (19)$$

*: Trebuie să acordăm o atenție mare numărului de grade de libertate (df) a cărui importanță este majoră în cazul selecțiilor mici. Astfel, ng = n - (numărul de parametrii calculat din datele selecției). De exemplu, dacă se fac 10 măsurători la calculul s^2 se folosește un singur parametru calculat din datele selecției - media. Deci avem 10-1 = 9 grade de libertate, adică df = 9. În cazul unei regresii bazată pe ecuația y = ax + b unde a și b se calculează din datele selecției vom aplica același principiu, adică df = 10 - 2 = 8.

Întreaga problemă a lumii în care trăim este aceea că nebunii şi fanaticii sunt întotdeauna atât de siguri pe ei, iar oamenii deştepți atât de plini de îndoieli

Bertrand Russell (1872 - 1970), filozof britanic

Teste de verificare a ipotezelor statistice

Una dintre numeroasele aplicații practice ale statisticii matematice este verificarea ipotezelor. Să consideram o repartiție unidimensională cu densitatea de repartiție:

$$f(X, \theta_1, \theta_2, \ldots) \qquad (20)$$

care depinde, în afară de variabila aleatoare $X = \{x_1, x_2, \ldots, x_k\}$, de unul sau mai mulți parametrii constanți, θ_i. În anumite cazuri practice trebuie verificat dacă parametrii repartiției cercetate (de exemplu măsurătorile efectuate) au anumite valori aşteptate. În alți termeni, aceasta înseamnă a verifica dacă se respectă o anumită distribuție, evident asupra căreia ne-am fixat, sau dacă se modifică unul din parametrii θ_i ai distribuției (20) în urma unei intervenții experimentale.

De exemplu, trebuie verificat dacă rezultatele date de un anumit instrument de monitorizare are o distribuție normală (sau de alt tip). În limbaj statistic, un astfel de test recurge la verificarea *ipotezei de zero* - în general o afirmație în care credem şi pe care sperăm, după caz, ca testul să o confirme sau sa o infirme. În cazul de față aceasta se formulează astfel: *H_0: parametrul θ_1 al repartiției cercetate ia valoarea θ_0.* Această ipoteza are o singură alternativă, *H_1: parametrul θ_1 ia o valoare diferită de θ_0*, fără însă a preciza ce valoarea ia parametrul respectiv în realitate. De asemenea prin testul respective nu se poate găsi ce altă distribuție s-ar potrivi cel mai bine pentru rezultatele experimentale obținute.

S-au un alt exemplu tipic este cel al unui cercetător interesat de faptul că viteza de reacție a unui şofer depinde de consumul de alcool. În acest caz, notându-se cu μ_1 timpul mediu de răspuns la auzul unui semnal sonor, după ce şoferii au consumat alcool, iar cu μ_2 timpul mediu de răspuns în lipsa consumului de alcool, ipoteza de zero implică faptul că parametrul μ_1-μ_2 *este zero* iar formularea se face astfel:

H_0: $\mu_1-\mu_2=0$ (sau H_0: $\mu_1=\mu_2$) cu alternativa H_1: $\mu_1-\mu_2\neq 0$

Ipoteza de zero este o ipoteza a lipsei diferențelor între parametrii caracteristici ai populațiilor sau între mărimile comparate prin testare, care adesea se speră să fie infirmată. Cuvântul *de zero* din denumirea ipotezei de zero simbolizează tocmai faptul că prin respectiva ipoteză se admite *lipsa oricărei diferențe*. În cazul menționat mai sus, dacă datele experimentale vor indica o diferență destul de mare între cele două medii, adică este adevărat faptul că alcoolul are o influență asupra mediei vitezei de reacție, atunci ipoteza de zero poate fi respinsă şi, implicit, admisă ipoteza alternativă, cea în care crede cercetătorul, H_1.

Observație

Dacă testul statistic se referă la unul dintre parametrii θ_i ai legii de probabilitate f(X, θ_1, θ_2, …), atunci testul se numeşte *parametric*. Dacă se referă la o lege de probabilităţi f se numeşte *test de concordanţă*.

Se numeşte eroare de ordinul I probabilitatea de respingere a unei ipoteze adevărate. Probabilitatea de a se produce o astfel de eroare este mică dar există întotdeauna şi este propusă de către experimentator. Aceasta se notează cu α şi $\alpha \in (0,1)$. Se numeşte eroare de ordinul II probabilitatea de a se admite o ipoteză falsă. Aceasta se notează cu β. Se numeşte putere a testului, probabilitatea de a se respinge o ipoteză falsă şi se notează cu π, iar $\pi = 1 - \beta$ fiind principalul criteriu pentru compararea diferitelor teste statistice.

Testul t - compararea a două medii

Testul t este unul dintre cele mai cunoscute şi utilizate teste statistice bazat pe o distribuţie cunoscută în statistica matematică, *distribuţia t* [149]. Una dintre aplicaţii constă în compararea a două medii.

Fie X o variabilă aleatoare care constă în rezultatele unei măsurători instrumentale nemodificate (1) şi modificate (2) asupra unei probe. Să considerăm că această măsurătoare urmează legea normală N(x, μ, σ) în care ambii parametrii μ şi σ sunt necunoscuţi. Ipoteza de zero admisă pentru această caracteristică este aceea că ambele metode duc la acelaşi rezultat mediu, adică H_0: $m_1 = m_2$ iar ipoteza alternativă H_1: $m_1 \neq m_2$, unde cu m_1 respectiv m_2, s-au notat valorile medii obţinute experimental în cazurile amintite.

Selecţiile empirice (adică rezultatele concret măsurate) în cele două cazuri se vor nota: $S_1=\{x_1', x_2', ..., x_n'\}$ şi $S_2=\{x_1'', x_2'', ..., x_m''\}$ unde n poate să difere de m. Mediile valorilor experimentale m_1 şi m_2 şi dispersiile de selecţie s_1^2 şi s_2^2 corespunzătoare celor două selecţii S_1 şi S_2 se vor calcula astfel:

$$m_1 = \Sigma x_i'/n;\ m_2 = \Sigma x_i''/m;\ s_1^2 = (n-1)^{-1}\Sigma(x_i'-m_1)^2;\ s_2^2 = (m-1)^{-1}\Sigma(x_i''-m_2)^2; \quad (21)$$

pe care le considerăm selecţii din dispersii diferite - necunoscute. Testul t recurge la calculul următoarei valori t care delimitează domeniul critic (pe baza datelor experimentale):

$$t_{exp} = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n} - \frac{s_2^2}{m}}} \quad (22)$$

Dacă $t_{exp} < t_{\nu,\alpha/2}$, unde ν reprezintă numărul gradelor de libertate iar α coeficientul de risc (quantila) atunci se admite ipoteza H_0. În caz contrar se acceptă ipoteza alternativă, H_1

Precizări

[149] Vezi un manual didactic de statistică, de exemplu: Potra G. T., *Probabilităţi şi Statistică Matematică. Procese Stochastice*, Transilvania Press, Cluj-Napoca, 2003, p.111.

Valoarea ν - numărul gradelor de libertate - se calculează cu ajutorul ecuațiilor:

$$\frac{1}{\nu}=\frac{c^2}{n-1}+\frac{(1-c)^2}{m-1},\quad c=\frac{s_1^2}{n}\Big/\left(\frac{s_1^2}{n}+\frac{s_2^2}{m}\right) \tag{23}$$

Valoarea α - coeficientul de risc - se fixează în tehnică pe valoarea α = 0.05 - acceptabilă în majoritatea cazurilor obişnuite (deci, α/2 = 0.025), care implică o probabilitate procentuală de a accepta o ipoteză falsă de 5%.

Dacă dispersiile se consideră egale, ν = n'+n"-2.

Numărul de determinări (n' si n") trebuie să fie mic, între 5-30 determinări. Valoarea $t_{\nu,\alpha/2}$ se va scoate din tabele disponibile în majoritatea cărților specializate în statistică sau se calculează folosind o aplicație ce posedă nucleu de calcul statistic (ca Excel). Se dă mai jos o porțiune redusă dintr-un astfel de tabel (tabelul 1).

Tabelul 20.1. Valori ale funcției de repartitie t (Student)

ν	4	5	6	7	8	9	10
$t_{\nu,\alpha/2}$; α = 0.05	2.776	2.571	2.447	2.365	2.306	2.262	2.228

Definiții

Quartila (sau *cuartila*) este una din cele 3 valori care împart un set de date ordonat strict în 4 părți egale, astfel încât fiecare parte să reprezinte o pătrime din populație. Valorile quatilelor aparțin setului de date.

Astfel, prima quartilă (notată Q1), *quartila inferioară*, taie superior cele mai mici 25% dintre valorile şirului de date, şi se mai numeşte *percentila* 25; a doua quartilă (notată Q2), *mediana*, taie datele în două, şi se mai numeşte *percentila* 50; a treia quartilă (notată Q3), quartila superioară, taie inferior cele mai mari 25% dintre valorile şirului de date (şi taie superior cele mai mici 75% dintre valorile şirului de date), şi se mai numeşte *percentila* 75. Diferența dintre quartila superioară şi quartila inferioară se numeşte domeniu interquartilic.

Quantila a k-a din m este acea valoare a lui $X=x_1...x_n$ (x_k) care corespunde frecvenței cumulative k/m. Dacă m = 4 atunci *quantila* se numeşte *quartilă* iar dacă m = 100 se numeşte *percentilă*.

Teste de eliminare a rezultatelor îndoielnice

Uneori, după efectuarea unor măsurători, prin examinarea vizuală a rezultatelor pare evident că unul sau două dintre rezultate se abat mult de la grupul de valori obținute şi putem fi tentați (pentru a obține un rezultat cât mai bun) să le eliminăm. Dar pe ce bază (riguroasă) se poate face acest lucru? Privind lucrurile statistic, pentru eliminarea acestora, se poate admite că probabilitățile de apariție ale datelor îndoielnice sunt mai mari decât cele admise

teoretic. În fig. 5 se prezintă o ilustrare a cazului probabilității anormale pentru astfel de valori îndoielnice.

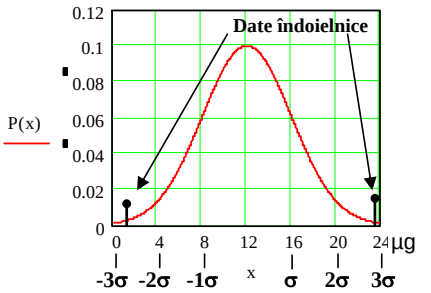


Fig. 5. Situația probabilității datelor îndoielnice

Practic, eliminarea acestor rezultate se bazează pe aplicarea unor metode statistice recunoscute internațional. Prezentăm două astfel de metode.

O prima metodă, este denumită *regula a erorilor uriaşe*. Conform acestei metode dacă se poate calcula deviația standard a unei măsurători, s, cu ajutorul acesteia, se va putea calcula parametrul M conform relației:

$$M = |\text{suspectul-media}|/s \qquad (24)$$

În continuare, dacă M > 4 punctul se respinge iar dacă M ≤ 4 nu. Metoda amintită (regula erorilor uriașe) este un test statistic grosolan dar care se bazează de fapt pe distribuția statistică t descrisă în cele ce urmează.

O a doua cale, mai riguroasă, este aşanumitul *test Q* (sau *testul Dixon*) pentru care se presupune că *se cunoaşte media* şi *deviația standard* iar datele se consideră *distribuite normal*. Testul trebuie aplicat o singură dată pentru un rezultat îndoielnic considerat prea mare (prin simplă inspecție vizuală a datelor) şi o singură dată pentru altul prea mic (față de tot ansamblul măsurătorilor). Testul constă în calculul parametrului Q, după ecuația:

$$Q_{exp} = |X_a - X_b|/R \qquad (25)$$

unde R este domeniul rezultatelor măsurătorii (de exemplu, după ce am aşezat rezultatele în ordinea crescătoare iar X_1 este cel mai mic şi X_n, cel mai mare, $R = X_n - X_1$), X_a este rezultatul suspect iar X_b este rezultatul cel mai apropiat de X_a (dar nesuspectat). După calculul Q_{exp} punctul se elimină cu o siguranță de 90% dacă valoarea Q_{exp} este mai mare decât valoarea corespunzătoare din tabelul cu valori critice (tabelul 2).

*Tabelul 2. Valori de decizie pentru testul Q (Dixon) corespunzătoare intervalului de încredere cu probabilitatea (siguranța) de 90%**

n	3	4	5	6	7	8	9	10
Q	0.94	0.76	0.64	0.56	0.51	0.46	0.44	0.41

*Desigur, valorile din tabel se modifică cu probabilitatea considerată dar cu cât siguranța creşte (95 sau 99%), cu atât punctul se elimină mai rar.

Nu este sigur că totul e nesigur
Blaise Pascal (1623-1662)

Regresia în analiza instrumentală

Termenul de regresie a fost introdus în statistică de englezul Fisher cu ocazia prelucrării matematice a datelor măsurătorilor înălțimii populației. S-a observat că dacă ambii părinți sunt mai înalți, copii acestora au înălțimi mai mici, *regresând* spre o valoare medie. Evident, același lucru s-a observat și dacă ambii părinți au înălțimea sub medie adică copii vor *regresa* spre înălțimi mai mari, adică tot spre medie.

Dacă între caracteristicile Y (de ex. concentrația unui anumit component), X_1, X_2, ..., X_n (de exemplu semnale) studiate simultan pentru un anumit tip de probe (din mediu, sau materiale supuse analizei chimice) se constată că există o legătură foarte strânsă, apropiată de una funcțională, se poate aplica *analiza de regresie* [150]. Aceasta permite aflarea unei *ecuații de regresie* - o funcție care înlesnește calculul uneia din caracteristicile amintite (de exemplu concentrația uneia din specii pe baza celorlalte mărimi măsurate) cu erori evaluabile. Cu cât numărul de puncte (în spațiul multidimensional) este mai mare cu atât mai mare va fi încrederea în ecuația stabilită.

Din cauza erorilor întâmplătoare, care apar practic întotdeauna, legătura dintre factorii ce afectează semnalul analitic este una statistică (mai precis stochastică). De aceea, se încearcă stabilirea prin procedee de interpolare a valorilor Y din distribuția $Y(X_1, X_2, ..., X_p)$ realizându-se o apropiere de legătura funcțională (ideală) de la cea statistică (reală). Aşadar printr-o astfel de analiză se găsește un model matematic util în practică, aparent fără un suport fenomenologic (un anumit model fizic). Totuși, *rezultatele cele mai bune se obțin atunci când se ajunge la o concordanță perfectă între modelul fizic considerat şi cel matematic*. De exemplu, legea Lambert-Beer în cazul metodelor spectrofotometrice prin absorbție, asigură suportul fizic pentru valabilitatea ecuațiilor liniare.

După forma matematică a modelului se pot distinge *modele liniare* şi *modele neliniare*. După numărul de variabile independente implicate se disting modelele monovariabile Y=Y(X) şi modelele multivariabile $Y=Y(X_1,X_2,...,X_p)$.

Chiar şi în cazul regresiei liniare se poate dezvolta conceptul de dependență liniară, acesta evoluând până la *dependența liniarizabilă*. Conform acestui concept o ecuație de regresie este liniară dacă dependența funcțională între variabilele considerate poate fi adusă la o formă liniară. Conform acestui principiu, toate ecuațiile de regresie:

$$y = a\cdot\log(x)+b;\ y = a\cdot\log(\log(x))+b;\ y = a\cdot(1/x)+b;\ y = a\cdot e^{x}+b \qquad (26)$$

[150] sinonimă cu *empirical modelling, curve fitting* sau *forecastig*

sunt dependențe liniarizabile și li se asociază tot modelul liniar de regresie: $y = a \cdot z + b$, unde noua variabilă independentă z se obține, după caz, $z = \log(x)$, $z = \log(\log(x))$, $z = 1/x$ respectiv $z = e^x$. De asemenea, o altă extensie a modelului liniar de regresie se obține atunci când factorul eroare acționează asupra ambelor variabile implicate în regresie. În acest caz formulele pentru validarea parametrilor regresiei capătă o altă formă [151].

Regresia liniară

Este frecvent aplicată în practica analizelor instrumentale, consideră valabil, pentru datele măsurate, modelul:

$$y = \hat{y} + \varepsilon;\ \hat{y} = b_0 + b_1 \cdot x \qquad (27)$$

unde x, y sunt caracteristicile măsurate de analist (adesea y este o concentrație a unui analit iar x un semnal analitic), $\hat{y}$ este caracteristica estimată de model pentru y, ε este eroarea relativă iar b_0 și b_1 sunt coeficienții care se estimează cu ajutorul modelului. O tratare mai generală a metodelor de estimare a parametrilor este prezentată în anexe. În cele ce urmează ne vom limita la cazul mai frecvent întâlnit adică la *regresia liniară bidimensională (neponderată).* De la bun început trebuie amintit faptul că în acest caz se fac precizările:

÷ Erorile variabilei y nu depind de cele ale variabilei x (singura care este afectată de eroarea experimentală),

÷ Toate probele etalon (standardele analitice) contribuie în mod egal la eroarea finală dată de analiza de regresie.

Se va nota în continuare:

$$\varepsilon_i = y_i - \hat{y}_i;\ \varepsilon_i^2 = (y_i - \hat{y}_i)^2 \qquad (28)$$

Cantitatea ε_i se numește *eroare reziduală*. A obține *minimul sumei pătratelor erorii reziduale* (totdeauna pozitive), ε_i^2:

$$\Sigma\varepsilon_i^2 = \text{minim} \qquad (29)$$

este obiectivul *regresiei liniare simple* prin metoda *celor mai mici pătrate*.

Prin acest mod de tratare matematică a problemei se fac următoarele presupuneri simplificatoare (fără de care modelul găsit își pierde valabilitatea):

÷ erorile datorate regresiei provin exclusiv din erorile întâmplătoare care afectează semnalul analitic măsurat (y);

÷ erorile întâmplătoare ale variabilei y sunt cam de același ordin de mărime și au o distribuție normală;

[151] H. Naşcu, L. Jäntschi, T. Hodişan, C. Cimpoiu and G. Câmpan, Some Applications of Statistics in Analytical Chemistry, Rev. Anal. Chem., 18(6), 409-456 (1999).

÷ erorile mărimii măsurate sunt independente de valorile x (Atenție! Valorile erorilor nu valorile y);

÷ erorile valorilor probelor etalon (x_i) sunt distribuite normal fiind neglijabile în raport cu semnalul măsurat y_i.

Conform algebrei liniare, valoarea minimă a membrului stâng din ecuația (29) se află prin rezolvarea sistemului de ecuații cu două necunoscute (b_0 și b_1):

$$\frac{\partial}{\partial b_k}\left(\sum_{i=1}^{n}\varepsilon_i^{\,2}\right)=0\,,\ k=0,1 \tag{30}$$

Folosind (27) și (28) se obține că:

$$\Sigma\varepsilon_i^2=\Sigma y_i^2+nb_0^2+b_1^2\Sigma x_i^2-2b_0\Sigma y_i-2b_1\Sigma x_i y_i+2b_0b_1\Sigma x_i \tag{31}$$

Împărțind cu n și trecând la medii ($M(X)=\Sigma X/n$):

$$M(\varepsilon^2)=M(y^2)+b_0^2+b_1^2M(x^2)-2b_0M(y)-2b_1M(xy)+2b_0b_1M(x) \tag{32}$$

În cazul de față valorile medii $M(\cdot)$ sunt valori cunoscute, calculabile din șirul de date (x,y), iar b_0 și b_1 sunt variabile necunoscute, calculabile din impunerea (30).

Derivând expresia (32) și folosind (30) se obține:

$$\frac{\partial M(\varepsilon^2)}{2\partial b_0}=b_0-M(y)+b_1M(x)=0=b_1M(x^2)-M(xy)+b_0M(x)=\frac{\partial M(\varepsilon^2)}{2\partial b_1} \tag{33}$$

Soluția obținută prin rezolvarea sistemului (33) pentru necunoscuta b_1 este:

$$b_1=\frac{M(xy)-M(x)M(y)}{M(x^2)-M(y^2)};\ b_0=M(y)-b_1M(x) \tag{34}$$

De aici (34) rezultă și b_0.

Credeți pe cei care caută adevărul; îndoiți-vă de cei care l-au găsit
Andre Gide (1869-1951)

Propagarea erorilor

Pe parcursul unui proces de monitorizare sau de execuție al unei analize chimice de laborator rezultatele măsurătorilor instrumentale, semnalele analitice sunt supuse unor calcule matematice care au drept rezultat rezultatul final al analizei, de exemplu concentrația de poluant sau, mai general, a speciei chimice evaluate. Erorile rezultatelor provocate de întregul proces analitic (începând cu luarea probei si terminând cu ultima măsurătoare efectuată) se propaga prin aceste calcule afectând rezultatul final printr-o modificare a erorii. Înțelegerea și deprinderea legilor propagării erorilor prin calcule reprezintă de fapt obiectivul prezentului subcapitol. Menționăm de la început că *propagarea se referă atât la erorile întâmplătoare cât și la cele sistematice*.

În general, să notăm cu y o funcție calculată în cadrul unei analize chimice și convenim că x_1, x_2, ... , x_m sunt argumentele acestei funcții și anume semnale analitice, respectiv constante, măsurate experimental. Notăm de asemenea erorile argumentelor funcției ε_1, ε_2, ... , ε_m. Pentru funcția:

$$y = y(x_1, x_2, \dots , x_m) \tag{35}$$

va trebui calculată o nouă eroare, pe care o notăm Δy, care va fi funcție atât de dimensiunile erorilor argumentelor cât și de valorile argumentelor, adică:

$$\Delta y = \Delta y(\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots , \varepsilon_m, x_1, x_2, \dots , x_m) \tag{36}$$

Prezentarea *in extenso* a tratării matematice a propagării erorilor prin calcule, pentru cazul cel mai general, (prezentat, de exemplu, pe http://www.itl.nist.gov.div989/handbook/) fiind prea voluminos pentru spațiul din prezenta lucrare vom prezenta o variantă simplificată.

Pentru început să considerăm ipoteza plauzibilă $\varepsilon_i << x_i$ și în acest caz erorile pot fi tratate ca niște diferențiale, adică $\varepsilon_i = dx_i$. Conform algebrei liniare rezultatul aproximativ [152] va fi:

$$dy = \sum \varepsilon_i \frac{\partial y}{\partial x_i}; \; err(y) = \sum err(x_i) \cdot \left| \frac{\partial y}{\partial x_i} \right| \tag{37}$$

În acest caz se poate observa găsirea erorii rezultatului are la bază calculul derivatelor parțiale ale funcției y, din ec. (35), în raport cu toate variabilele acesteia și pe înmulțirea rezultatului derivatei cu valoarea erorii variabilei ε_i corespunzătoare. Suma acestor produse va da chiar valoarea rezultatului.

[152] Se renunță la diferențialele de ordin superior.

Să considerăm în cele ce urmează câteva exemplificări prin cazuri mai des întâlnite în practică.

Eroarea la adunare sau scădere

Să considerăm cazul sumei valorilor A şi B, rezultatul fiind y. În acest caz pentru orice calcul de forma y = A + B eroarea rezultatului va fi:

$$\varepsilon_y = \varepsilon_A + \varepsilon_B \tag{38}$$

De ce? Pentru că se ia în considerare întotdeauna cazul cel mai nefavorabil. În cazul adunării sau scăderii, deşi erorile ar putea să se anuleze reciproc (în cazul cel mai fericit) este totuşi posibil să aibă acelaşi sens si sa se cumuleze. De aceea se ia în considerare cazul nefavorabil. Evident că de aici, în cazul adunării amintite, eroarea relativă va fi:

$$\delta_y = \varepsilon_y / y = (\varepsilon_A + \varepsilon_B)/(A+B) \tag{39}$$

Cum adesea măsurătoarea instrumentală repetată duce la valori ale incertitudinii (exprimată ca deviaţie standard de selecţie a mediei notată s_y) avem ţinându-se cont de o proprietate a dispersiei (dispersia sumei a doua variabile independente este suma dispersiilor):

$$s_y = (s_A^2 + s_B^2)^{1/2} \tag{40}$$

Dacă de exemplu A = 15 cu s_A = 0.5 şi B = 1200 cu s_B = 10 se va afla mai întâi rezultatul y = 15 + 1200 = 1215 iar apoi se va calcula eroarea asociată acestuia:

$$s_y = \sqrt{0.5^2 + 10^2} = 10{,}01$$

Deci, rezultatul final se va scrie:

y = 1215 cu s_y = 10.01 (de exemplu y = 1215 ± 3·10)

fiind exprimat în unităţi fizice specifice instrumentului utilizat.

Eroarea relativă se va exprima:

$$\delta_y = \frac{10.01}{1215} = 0.0082$$

În cazul unei diferenţe, mai concret în cazul citirii volumului unei măsurători de reactiv cu biureta, unde se face o scădere între două citiri - prima, cea iniţială (1) şi a doua, finală (2) - calculul se face, evident, identic ($V = V_1 - V_2$; $\varepsilon_V = \varepsilon_{V1} + \varepsilon_{V2}$).

Dacă considerăm un caz şi mai complicat, de exemplu:

$$y = a + b - c, \text{ cu incertitudinile respective notate } s_y, s_a, s_b, s_c \tag{41}$$

se va calcula incertitudinea rezultatului din ecuaţia:

$$s_y = \sqrt{s_a^2 + s_b^2 + s_c^2} \tag{42}$$

iar eroarea relativă, pentru cel mai fericit caz:

$$\delta_y = \frac{s_y}{a + b - c} \tag{43}$$

Se observa că valoarea erorii relative depinde mult de valoarea rezultatului final. *O valoare mică a rezultatului duce automat la erori relative mari*. De exemplu, să considerăm cazul unei diferențe de volum mici. Dacă avem, într-un prim caz, o eroare de citire de 0.02 ml la un volum total de 40 ml, măsurat prin diferență, înseamnă că eroarea relativă a măsurătorii de volum este:

$$\delta_V = \frac{\varepsilon_V}{V} = \frac{0.02 + 0.02}{40} = \frac{0.04}{40} = 0.01 \text{ sau } 0{,}1\%$$

Dacă cu aceeași biuretă măsurăm, într-un alt caz, doar 4 ml atunci:

$$\delta_V = \frac{\varepsilon_V}{V} = \frac{0.02 + 0.02}{4} = \frac{0.04}{4} = 0.1 \text{ sau } 1\%$$

Sau, cu alte cuvinte, în acest ultim caz se face o eroare de 10 ori mai mare. De aceea *trebuie evitate măsurătorile care implică obținerea unor concentrații foarte mici* chiar dacă sunt obținute prin diferențe ale unor cifre mari. În cazurile monitorizării poluanților mediului aflați, prin natura lor, în concentrații joase ne putem de aceea aștepta la valori extrem de mari ale erorilor.

Eroarea unui produs

Să considerăm cazul erorii apărute prin calculul unui produs: $y = x_1 \cdot x_2$. Aici, eroarea rezultatului se va calcula, în urma aplicării ecuației (37):

$$\varepsilon_y = \varepsilon_1 x_1 + \varepsilon_2 x_2 \tag{44}$$

iar eroarea relativă:

$$\delta_y = \frac{\varepsilon_y}{y} = \frac{\varepsilon_1}{x_1} + \frac{\varepsilon_2}{x_2} \tag{45}$$

Se poate observa că *eroarea relativă în cazul unui produs va fi dată de suma erorilor relative ale variabilelor.*

Eroarea unui cât

Și în cazul unei împărțiri regula de mai sus rămâne valabilă. Să considerăm calculul unei concentrații, C = m/V, unde m este masa si V volumul.

Considerând derivatele funcției C = C(m,V) = m/V:

$$\frac{\partial}{\partial m}\frac{m}{V} = \frac{1}{V}; \quad \frac{\partial}{\partial V}\frac{m}{V} = -\frac{m}{V^2} \tag{46}$$

şi întorcându-ne la ecuația (37) luând semnul + tot din considerarea cazului cel mai nefavorabil [153] (sau aplicarea modului - mai corect):

$$\varepsilon_C = \varepsilon_m \frac{1}{V} + \varepsilon_V \frac{m}{V^2} \tag{47}$$

Eroarea relativă va fi:

$$\delta_C = \frac{\varepsilon_C}{C} = \frac{\varepsilon_m}{m} + \frac{\varepsilon_V}{V} \tag{48}$$

Pentru cazul în care intervin atât înmulțirea cât şi împărțirea, anume y=a*b/c cu erorile respective s_a, s_b, s_c eroarea se va calcula:

$$s_y = \sqrt{\left(\frac{s_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{s_c}{c}\right)^2} \tag{49}$$

Eroarea unei exponențiale

Să considerăm exponențiala $y = a^b$ ($a > 0$, $b \neq -1,0$). Aplicând ecuația (37) se va obține pentru eroare:

$$\varepsilon_y = \varepsilon_a \frac{\partial}{\partial b} a^b + \varepsilon_b \frac{\partial}{\partial a} a^b = \varepsilon_a a^b \ln(a) + \varepsilon_b a^b \frac{b}{a} = a^b(\varepsilon_a \ln(a) + \varepsilon_b \frac{b}{a}) \tag{50}$$

Trecând la dispersii:

$$s_y = a^b(s_a \ln(a) + s_b \frac{b}{a}) = y(s_a \ln(a) + s_b \frac{b}{a}) \tag{51}$$

Eroarea relativă:

$$\delta_y = \frac{s_y}{y} = s_a \ln(a) + s_b \frac{b}{a} \tag{52}$$

[153] În urma derivării în raport cu variabila V, termenul al doilea ar avea semnul -. Considerand cazul cel mai nefavorabil (erorile actionează în acelaşi sens) am scris semnul + în loc de -.

Anexe

Anexa 1: Ecuația lui Bragg

Razele care interferă după difracție, sunt prezentate pe fig. 1 cu notațiile 1 şi 2. Raza notată cu 3 pe aceeaşi figură este o construcție ajutătoare egală ca lungime cu raza 1 dar deplasată astfel încât intersecția cu planul de atomi să se afle pe aceeaşi verticală cu raza interseția razei 2 cu planul superior de atomi.

În felul acesta, după cum se poate observa mai clar pe fig. 2, diferența de drum optic dintre cele două raze se poate afla ducând verticale din punctul A pe razele incidentă şi emergentă de pe planul al doilea de atomi (cu alte cuvinte trasând segmentele AD şi AB, egale). Se poate remarca că diferența de drum este suma DC + CB. Triunghiurile ADC şi ABC fiind egale DC = CB.

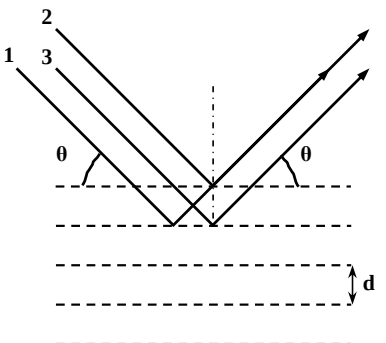


Fig. 1. Difracția şi interferența pe două planuri consecutive de atomi dintr-un cristal

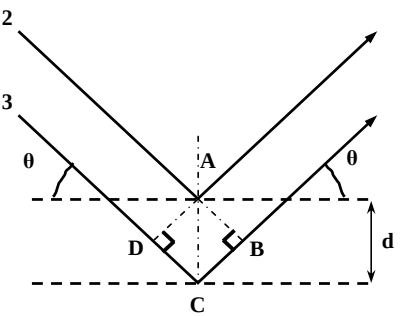


Fig. 2. Construcție ajutătoare pentru obținerea ecuației lui Bragg. Razele 2 şi 3 sunt aceleaşi cu cele de pe fig. 1

În triunghiul ABC se poate scrie, în conformitate cu definiția sinusului:

$$\sin\theta = \frac{CB}{AC} = \frac{CB}{d}$$

unde d este distanța dintre planele de atomi (AC = d).

De aici: CB = d·sinθ. Dar DC = CB = d·sinθ. Deci, diferența de drum DC + CB se poate scrie: DC + CB = 2d·sinθ.

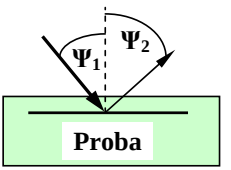
Se mai cunoaşte din fizică condiția de interferență constructivă - diferența de drum între cele două raze să fie un număr întreg de lungimi de undă (nλ). Scriind această condiție:

$$2d\cdot\sin\theta = n\lambda$$

am scris tocmai ecuația lui Bragg, folosită mult atât în XRF cât şi în difracția cu raze X.

Anexa 2: Ecuația lui Sherman

Când o radiație primară pătrunde prin suprafața unei probe dintr-un material, are loc o interacțiune între aceasta şi atomii din acel material. În final, radiația incidentă este absorbită dar, totodată, ia naştere, aşa cum s-a arătat, o radiație de fluorescență. Pe drumul său către exterior radiația de fluorescență, emisă de către un anumit atom, întâlneşte alți atomi (de acelaşi fel sau străini) având loc tot atâtea interacțiuni. Radiația care intră în detector este rezultatul tuturor acestor interacțiuni. Absorbția radiației primare cât şi absorbția sau intensificarea celei de fluorescență poarta denumirea comună de *efect de matrice*. Asupra acestei probleme, de loc simple, s-au aplecat de-a lungul timpului mai mulți autori [154,155]. Ecuația admisă astăzi drept cea mai adecvată poartă numele de ecuația lui Sherman [156]. Fără a prezenta deducția, considerând unghiurile de incidență (Ψ_1), respective a celui sub care părăseşte proba radiația de fluorescență (Ψ_2), cele prezentate pe fig. 3, expresia propusă de Sherman pentru intensitatea radiației de fluorescență este următoarea:



$$I_i = \frac{S\Omega}{4\pi \sin\Psi_1} \cdot \frac{C_i g_i \kappa(E_i, I_i)\mu_i(E)}{\frac{\mu(E)}{\sin\Psi_1} + \frac{\mu(E_i)}{\sin\Psi_2}}$$

$$\mu(E) = \sum_i C_i \mu_i(E)$$

Fig. 3. Unghiurile de incidență - pentru radiația primară Ψ_1, respectiv a celui de ieşire Ψ_2 - pentru radiația de fluorescență

unde : I_i este intensitatea observată pentru linia caracteristică a elementului i, E - energia radiației incidente, E_i - energia liniei caracteristice a elementului i măsurat, S - aria suprafeței iradiate a probei, C_i - concentrația elementului i în probă, g_i - o constantă de proporționalitate caracteristică elementului i, ψ_1 - unghiul dintre suprafața probei şi radiația X - incidentă, ψ_2 - unghiul dintre suprafața probei şi detector, Ω - unghiul solid al radiației care pătrunde în detector, $\kappa(E_i, I_i)$ - răspunsul instrumentului la energia E_i a liniei caracteristice pentru elementul i, $\mu_i(E)$ - coeficientul de absorbție masică al elementului i la o valoare a energiei radiației incidente E, $\mu(E)$ coeficientul total de absorbție al probei pentru energia radiației incidente E, $\mu(E_i)$ - coeficientul total de absorbție al probei la valoarea energiei liniei caracteristice a elementului i.

Ulterior Sherman a dezvoltat într-o altă lucrare [157] teoria a sa pentru a putea exprima intensitatea radiației X emise dintr-o probă cu mai multe elemente, supuse unei iradieri cu o sursă de radiație policromatică. Perfecționarea ulterioară teoriei lui Sherman de către Sharaiwa şi Fujino [158] a dus la o expresie mai generală, cunoscută în literatura de

[154] von Hamos, L., Arkiv. Math. Astron. Fys. 31a, 25, 1945.
[155] Gillam, E., Heal, H.T., British Journal of Applied Physics, 3, p. 353-358, 1952.
[156] Sherman, J., ASTM Special Tech. Publ. No. 157, 1954.
[157] Sherman, J., Spectrochim. Acta. 7, 283, 1955.
[158] Shiraiwa, T., Fujino, N., Japanese Journal of Applied Physics, 5(10), p. 886-899, 1966.

specialitate tot sub denumirea de ecuația lui Sherman fiind folosită pentru etalonarea majoritatății spectrometrelor de raze X moderne.

Anexa 3: Deducerea expresiei alternative pentru ecuația rezoluției (R_S)

Rezoluția poate fi scrisă ca un produs de trei factori, fiecare dintre aceştia având în componența lor o mărime fizică specifică:

(1) eficiența coloanei - exprimată prin *numărul de talere teoretice* (N), (2) capacitatea coloanei - exprimată prin factorul de capacitate (k) și

(3) selectivitatea coloanei - exprimată (pentru o pereche de substanțe) prin mărimea cu acelaşi nume - selectivitatea notată α.

Se porneşte de la binecunoscuta relație de definiție a rezoluției pentru două picuri alăturate, corespunzătoare substanțelor A şi B, şi se foloseşte $t_R = t_M(1+k)$, când rezultă

$$R_S = \frac{\Delta t_R}{\overline{w}} = \frac{t_{R,B} - t_{R,A}}{4\overline{\sigma}} = \frac{t_M(k_B - k_A)}{4\overline{\sigma}} \qquad (1)$$

Pe de altă parte, picurile adiacente fiind apropiate se poate face aproximația:

$$\overline{\sigma} = \sigma_B \qquad (2)$$

Dacă se mai ține cont şi de definiția numărului de talere teoretice (N):

$$N = \frac{t_{R,B}^2}{\sigma_B^2} \qquad (3)$$

exprimat în funcție de picul al doilea (cazul cel mai nefavorabil) se poate scrie consecutiv:

$$\sigma_B^2 = \frac{t_{R,B}^2}{N},\ \overline{\sigma} = \frac{t_{R,B}}{\sqrt{N}} \qquad (4)$$

Dar $t_{R,B}$ se mai poate scrie $t_{R,B} = t_M(1+k_B)$ şi (4) devine:

$$\overline{\sigma} = \frac{t_M(1+k_B)}{\sqrt{N}} \qquad (5)$$

Înlocuind în (1):

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k_B - k_A}{1+k_B} = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k_B}{1+k_B} \cdot \frac{k_B - k_A}{k_B} \qquad (6)$$

cu scopul de a separa cei trei factori amintiți la început. Împărțind apoi numărătorul şi numitorul celui de-al treilea factor la k_A şi înlocuind în expresia apărută raportul k_B/k_A cu *coeficientul de selectivitate* α, se obține ecuația finală:

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k_B}{1+k_B} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \qquad (7)$$

adică ceea ce era de demonstrat. Primul factor depinde de *eficiența* coloanei, al doilea de *capacitatea* coloanei iar ultimul de *selectivitatea* coloanei. Cu cât aceştia vor fi mai mari fiecare cu atât rezoluția unei separări va fi mai bună.

Se poate remarca faptul că influența *factorului de capacitate* pare redusă. Acest lucru este adevărat în cazul coloanelor gaz-cromatografice cu umplutură obişnuită când k are valori cuprinse între 5 şi 100. În aceste condiții raportul k/(1+k) este foarte apropiat de 1 şi într-adevăr contribuția factorului de capacitate a coloanei asupra rezoluției este neglijabilă. Dar, la coloanele capilare unde k ia valori cuprinse între 0.1 şi 5 datorită micşorării accentuate a volumului fazei staționare, efectul factorului de capacitate devine important. Acest efect este mai clar observat de pe graficul din figura 4.

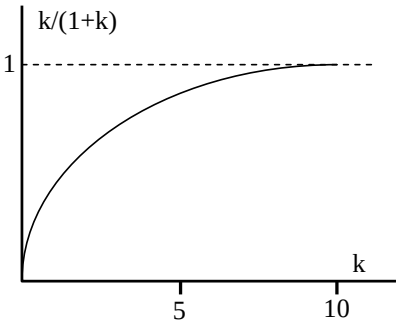


Fig. 4. Dependența raportului k/(1+k) din ecuația rezoluției R_S în funcție de valoarea factorului de capacitate (k)

Cu alte cuvinte, la coloanele capilare, valorile factorului de capacitate (k) coborâte vor determina diferențe mult mai mari în rezoluții, față de cazul valorilor k ridicate. Aşadar, la valori k mici (retenții reduse) separările vor fi superioare datorită unor diferențe mai pronunțate între rezoluții, lucru datorat şi factorului de capacitate.

În rezumat rezoluția trebuie întotdeauna privită ca o ecuație de tipul:

Rezoluția ~ [Eficiență]·[Capacitate]·[Selectivitate]

Anexa 4: Deducerea formulei de calcul a concentrației necunoscute prin metoda standardului intern

Anumite substanțe pure, cunoscute, pot avea timpul de retenție foarte apropiat de cel al substanței de analizat datorită unor interacțiuni cu suportul asemănătoare. Acestea pot fi adesea utilizate în calitate de standard intern. Conform acestei variante se cromatografiază două probe: prima, folosind proba necunoscută la care s-a adăugat o cantitate fixată de standard intern (fig. 5-stânga), şi a doua, folosind o cantitate cunoscută din substanța de analizat *la care s-a mai adăugat aceeaşi concentrație cunoscută de standard intern* (fig. 5-dreapta). Se fac următoarele convenții de notare:

$C_{X,\,E}$ = concentrația cunoscută din substanța X (substanța de analizat) în proba etalon,

$A_{X,\,E}$ = aria măsurată a picului corespunzător substanței X de concentrație cunoscută,

$C_{S,\,E}$ = concentrația standardului intern în ambele probe (identică),

$A_{S,\,E}$ = aria picului standardului intern în cazul probei etalon,

$A_{S,\,N}$ = aria picului standardului intern în cazul probei supuse analizei.

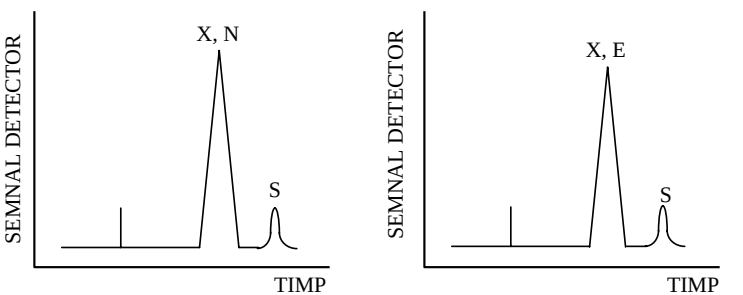


Fig. 5. Cele două probe executate pentru o analiză prin metoda adausului standard a substanței X; proba I (stânga) este obținută pe o probă necunoscute (X, N) iar proba II (dreapta) este obținută folosind o probă etalon - cunoscută (X, E); în ambele cazuri este prezent standardul intern, cunoscut, în aceeaşi cantitate

Detectorii gaz cromatografelor raspunzând liniar iar substanțele fiind apropiate ca structură, rezultă ca C este proporțional cu A sau C/A = constant. Scriind acest lucru pentru proba I (fig. 5 - stânga) şi pentru proba II (fig. 5 -dreapta):

$$\frac{C_{X,N}}{A_{X,N}} = \frac{C_{S,N}}{A_{S,N}} \Rightarrow C_{X,N} = \frac{C_{S,N}}{A_{S,N}} \cdot A_{X,N}\,,\ \frac{C_{X,E}}{A_{X,E}} = \frac{C_{S,E}}{A_{S,E}} \Rightarrow C_{X,E} = \frac{C_{S,E}}{A_{S,E}} \cdot A_{X,E}$$

Dar, $C_{S,E} = C_{S,N}$ deoarece am folosit aceeaşi concentrație în ambele experimente. Înlocuind $C_{S,N}$ cu $C_{S,E}$ obținem pentru concentrația necunoscută relația:

$$C_{X,N} = \frac{A_{S,E}}{A_{S,N}} \cdot \frac{A_{X,N}}{A_{X,E}} \cdot C_{X,E}$$

în care literele au semnificațiile precizate anterior.

Anexa 5: Selecții deviate şi nedeviate

În practică se consideră lucrează întotdeauna cu *selecții (eşantionare)* din mulțimi. De exemplu realizând o analiză instrumentală *se face o selecție* din mulțimea tuturor analizelor executabile pe o probă, să zicem în număr de peste 100. Dar, de regulă, se execută 3-5 probe. Selecția executată este deviată sau nedeviată (vezi fig. 6) în funcție de aspectul graficului frecvențelor obținut practic față de mulțimea ansamblului întregii populații. Se observă ca o selecție deviată diferă de una nedeviată.

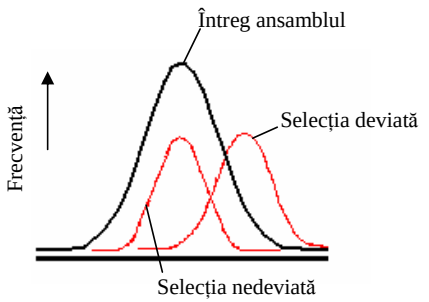


Fig. 6. Distribuția unei populații statistice şi aspectul unei selecții nedeviate şi a uneia deviate; se observă că media unei selecții nedeviate este practic identică cu a întregii populații din care s-a făcut selecția

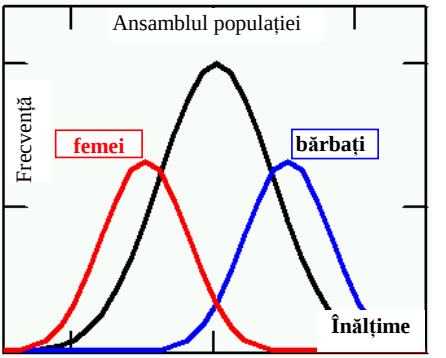


Fig. 7. Un exemplu de deviație este cel introdus pur şi simplu prin evaluarea separată a înălțimii femeilor şi bărbaților față de ansamblul populației

Un exemplu edificator în acest sens este înălțimea oamenilor (v. fig. 7). Se ştie că înălțimea populației umane are o valoare medie întâlnită cu o frecvență maximă.

În practică apar selecții deviate datorită unui factor de influență. De exemplu în analizele instrumentale apar deviații în jurul limitei de detecție sau a valorilor îndoielnice în jurul valorii medii.

Apariția deviațiilor nu este întotdeauna un lucru nedorit. Acestea pot apare datorită unei reale influențe a unui factor (o dată prezent şi alteori absent) asupra a două submulțimi ale populației per ansamblu lucru care trebuie constatat experimental. Dar alteori deviațiile pot apărea datorită unor luări incorect a probei (care devine nereprezentativă). Şi acest ultim caz este bine să fie pus în evidență pentru o mai mare siguranță.

Anexa 6: Ecuații de regresie [159]

Cel mai cunoscut model matematic de estimare a parametrilor ecuațiilor de regresie este cel fundamentat de Kolmogorov prin *minimizarea riscului*, un model cunoscut sub denumirea de *metoda celor mai mici pătrate*:

$$K(X,Y,B) = \sum\left(\hat{y}-y\right)^2 = \sum\left(b_0 + b_1 x - y\right)^2 \tag{8}$$

unde X,Y,B sunt vectorii coloană ai variabilei independente, variabilei dependente respectiv a coeficienților.

Au fost dezvoltate și alte metode de estimare a parametrilor, bazate pe alte funcții de pierdere (sume de reziduuri) după cum urmează:

1. R. Fisher, 1912, *metoda verosimilității maxime*:

$$F(X,Y,B) = \sum\left(1-\exp(-(\hat{y}-y)^2/2)\right) = \sum\left(1-\exp(-(b_0+b_1x-y)^2/2)\right) \tag{9}$$

2. J. Newman, A. Wald, *metoda minimax*:

$$NW(X,Y,B) = \sum\left|\hat{y}-y\right| \tag{10}$$

3. Bayes, 1750, *metoda probabilității aposteriori maxime*:

$$NW(X,Y,B) = \sum\begin{cases} 0, & \hat{y}-y < {}^{D(\hat{Y}-Y)}\!/_2 \\ 1, & \hat{y}-y \geq {}^{D(\hat{Y}-Y)}\!/_2 \end{cases} \tag{11}$$

În cazul multidimensional se fac convențiile: $x^T=(x^0,x^1,...,x^p)$, $x^0=1$; $X=(x_1,x_2,...,x_N)$; $Y=(y_1,y_2,...,y_N)$; $\hat{Y}=(\hat{y}_1, \hat{y}_2, ..., \hat{y}_N)$; $B^T=(b^0,b^1,...,b^p)$ iar valoarea estimată este:

$$\hat{y} = \sum_{i=0}^{p} b^i \cdot x^i \tag{12}$$

Minimizând pătratele erorilor K(X,Y,B)=min avem:

$$K(X,Y,B) = \sum\left(\hat{y}-y\right)^2 = \sum_{j=1}^{N}\left(\sum_{i=0}^{p} b^i x_j^i - y_j\right)^2 = \min \tag{13}$$

În cazul de mai sus, soluția dată de algebra liniară sistemului de ecuații:

$$\frac{\partial}{\partial b^k}\sum_{j=1}^{N}\left(\sum_{i=0}^{p} b^i x_j^i - y_j\right)^2 = 0, \quad k = \overline{0,p} \tag{14}$$

este, după aranjarea sumelor:

$$\sum_{i=0}^{p} b^i\left(\sum_{j=1}^{N} x_j^k x_j^i\right) = \sum_{j=1}^{N} x_j^k y_j \quad k = \overline{0,p} \tag{15}$$

dată de ecuația:

$$B = CZ^{-1} \tag{16}$$

[159] H. Nașcu, L. Jäntschi, T. Hodișan, C. Cimpoiu and G. Câmpan, Some Applications of Statistics in Analytical Chemistry, Rev. Anal. Chem., 18(6), 409-456 (1999).

unde:

$$Z = (z_k^i)_{\substack{0\le i\le p\\0\le k\le p}} = (\sum_{j=1}^{N} x_j^k x_j^i)_{\substack{0\le i\le p\\0\le k\le p}} \text{ şi } C^T = (c^k)_{0\le k\le p} = (\sum_{j=1}^{N} x_j^k y_j)_{0\le k\le p} \quad (17)$$

Mai concret, dacă în urma unei determinări prin analiza spectrală [160] dacă avem p probe, fiecare având câte r constituenți și determinăm semnalele pe q canale (de exemplu lungimi de undă diferite), semnalele depinzând liniar de concentrații, vor duce la ecuația:

$$R = CS^T + E \quad (18)$$

unde:

R - matricea semnalelor (răspunsurilor) pe canalele considerate în număr de q pentru fiecare din cele p probe (dimensiune p×q);

C - matricea concentrațiilor celor r componenți în probe (dimensiune p×r);

S - matricea sensibilităților (dimensiune q×r);

E - matricea erorilor - cu aceleași dimensiuni cu R (p×q).

Deoarece în ultimul timp achiziția datelor se face în laboratoarele de analize aproape exclusiv cu ajutorul calculatoarelor, pentru analiza chimică cantitativă metodele bazate pe algebra liniară multidimensională și statistica multiliniară au devenit aplicații curente.

Odată stabiliți, coeficienții și erorile ce afectează rezultatele semnalelor pe baza ecuațiilor de regresie, în analiza chimică se parcurge drumul invers, ecuațiile de regresie devenind ecuații de calibrare (corespondentul multidimensional al curbei de calibrare în două dimensiuni).

Tot ecuații de regresie se obțin și prin implementarea modelelor de decizie multiliniare din domeniul inteligenței artificiale. Ecuațiile și modelele de regresie au căpătat o utilizare tot mai frecventă odată cu dezvoltarea instrumentației analitice computerizate. În acest domeniu sunt nelipsite curbele de calibrare.

O noutate în analiza de regresie multiliniară (multifactorială) este *analiza componentelor principale*. Deși aceasta se apropie mai mult de analiza factorială, se înrudește foarte mult cu regresia multiliniară. Ca principiu al metodei, este o regresie liniară repetată de un număr de ori egal cu numărul de componente principale considerat. La fiecare iterație se determină coeficienții componentei considerate având ca date de intrare X_K: caracteristica principală K, Y_K: reziduul provenit din iterația pentru componenta principală (K-1) și ca date de ieșire Y_{K+1} , reziduul provenit de la regresia Y_K după X_K și vectorul de coeficienți B_K al componentei principale K.

[160] D. Lorber; K. Faber and R. Kowalski, Anal. Chem., 1983, **55**, 643

Este de preferat analiza componentelor principale în locul regresiei multiliniare atât din considerente teoretice [161] cât şi practice.

Dintre considerentele teoretice, cel mai important este că vectorii B_K, K = 1, 2, ... sunt ortogonali în spațiul multidimensional al componentelor principale.

Dintre considerentele de natură practică [162], (1) nu este obligatoriu precizat la început numărul componentelor principale, numărul acestora putând să se modifice fără ca componentele principale deja calculate să fie afectate de acest lucru; (2) este mult mai uşor de interpretat fiecare componentă în parte, prin proiecția sa în planul corespunzător; (3) nu sunt afectate corelațiile de serie între şirurile de date prin aplicarea regresiei liniare repetate în locul regresiei liniare multiple.

În optimizare, atunci când numărul seturilor de date depăşeşte numărul coeficienților, modelul de optimizare ne conduce la un sistem de ecuații de regresie. În acest caz se minimizează suma erorilor generate de fiecare ecuație în parte pentru a obține un sistem determinat de ecuații, de unde, pe acelaşi principiu algebric enunțat la regresia multiliniară, se deduc coeficienții. În continuare, ecuația de regresie obținută este folosită pentru a da interpretări cantitative ale fenomenului studiat prin intermediul parametrului optimizat.

Dezvoltarea softurilor a dus la o explozie pe piața de programe specializate de prelucrări statistice. Majoritatea acestor programe au implementate rutine pentru calculul regresiilor de diferite feluri:

÷ GraFit, Data Analysis and Graphics Program, Erithacus Software Ltd.

÷ Slide, Slide Write Plus for Windows, Advanced Graphics Software Inc.

÷ MathCad, MathSoft Inc., Collabra Software Inc.

÷ Excell, Microsoft Corporation, Soft Art Dictionary and Program.

÷ Statistica, Statistica for Windows, StatSoft Inc.

÷ Surfer for Windows, Software Package, Golden Software.

---

[161] V. Centner, şi colab., Anal. Chem.; 1996, 68, 4851-4858.
D. Jouan-Rimbaud, B. Walczak, R.J. Poppi, O.E. de Noard and D.L.Massart; *Application of Wavelet Transform to Extract the Relevant From Spectral Data for Multivariate Calibration*, Anal. Chem., 1997, 69, 4317-4323. O.Stainback, S.Newmann, B.Cage, J.Saltiel, S.C.Miller, N.S.Dalal; Anal. Chem.; 1997; 69; 3708-3713.

[162] Massart D.L., Vandeginste B.G.M., Deming, S.N., Michotte Y., Kaufman L., *Chemometrics: a Textbook*, Elsevier, Amsterdam, 1988. Brereton R.G., *Chemometrics: Applications of Mathematics and Statistics to the Laboratory*; Ellis Horwood; Chichester; 1990. Jalliffe I.T., *Principal Component Analysis*, Springer-Verlag; New York, 1986. Meloun M., Mlitky J., Forina M., *Chemometrics for Analytical Chemistry, vol I: PC-Aided Statistical Data Analysis*, Ellis Horwood, Chichester, 1992.

Anexa 7: Constante universale

Mărime	Simbol	Valoare	Unitate de măsură
viteza luminii în vid	c	$2.99792458 \cdot 10^{8}$	ms^{-1}
sarcina elementară	e	$1.602177 \cdot 10^{-19}$	$A \cdot s$
constanta Faraday	$F=N_A e$	$9.6485 \cdot 10^{4}$	$A \cdot s \cdot mol^{-1}$
constanta Boltzmann	k	$1.38066 \cdot 10^{-23}$	$J \cdot K^{-1}$
constanta gazelor ideale Rydberg	$R=N_A k$	8.31451	$J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$
constanta Planck	h	$6.62608 \cdot 10^{-34}$	$J \cdot s$
numărul lui Avogadro	N_A	$6.02214 \cdot 10^{23}$	Mol^{-1}
unitatea atomică de masă	u	$1.66054 \cdot 10^{-27}$	Kg
masa electronului	m_e	$9.10939 \cdot 10^{-31}$	kg
masa protonului	m_p	$1.67262 \cdot 10^{-27}$	kg
masa neutronului	m_n	$1.67493 \cdot 10^{-27}$	kg
permitivitatea vidului	ε_0	$8.85419 \cdot 10^{-12}$	$A^2 \cdot s^2 \cdot J^{-1} \cdot m^{-1}$
permeabilitatea vidului	μ_0	$4 \cdot \pi \cdot 10^{-7}$	$J \cdot A^2 \cdot s^4 \cdot m^{-1}$
raza Bohr	a_0	$5.29177 \cdot 10^{-11}$	m
constanta structurii fine	$\alpha=\mu_0 e^2 c/2h$	$7.29735 \cdot 10^{-3}$	-
constanta Rydberg R_∞	$R_\infty=m_e e^4/8h^3 c\varepsilon_0{}^2$	$1.09737 \cdot 10^{5}$	cm^{-1}
accelerația gravitațională standard	g	9.80665	$m \cdot s^{-2}$
constanta gravitațională	G	$6.67259 \cdot 10^{-11}$	$N \cdot m^2 \cdot kg^{-2}$

Anexa 8: Domeniile de frecvență ale radiațiilor şi legătura cu substanța

<table>
<tr><td>mişcări</td><td colspan="2">tipul radiației</td><td>λ</td></tr>
<tr><td rowspan="3">rotație moleculară</td><td colspan="2">radio</td><td>>1m</td></tr>
<tr><td colspan="2">microunde</td><td>1m

1mm</td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">infraroşu îndepărtat</td><td>10^{-3}m</td></tr>
<tr><td>vibrație moleculară</td><td>10^{-5}m</td></tr>
<tr><td>excitare electronică</td><td colspan="2">infraroşu apropiat</td><td rowspan="3">10^{-6}m = 1μm
700nm
700-620nm
560-510nm
450-400
10^{-7}m</td></tr>
<tr><td rowspan="2">roşu
verde
Violet</td><td rowspan="2">vizibil</td></tr>
<tr><td>ultraviolet</td></tr>
<tr><td rowspan="2">excitare electronică</td><td colspan="2" rowspan="2">Ultraviolet de vid</td><td>10^{-8}m</td></tr>
<tr><td rowspan="2">excitarea miezului electronic</td><td>10^{-9}m = 1nm</td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="3">raze X</td><td>10^{-10}m = 1Å</td></tr>
<tr><td rowspan="2">excitare nucleară</td><td>10^{-11}m</td></tr>
<tr><td colspan="2">Raze γ</td><td>10^{-12}m = 1pm

10^{-12}-10^{-13}m</td></tr>
<tr><td colspan="2">raze cosmice</td><td><10^{-14}m</td></tr>
</table>

Anexa 9: Electronegativitatea elementelor

Conform definiției date de *Oxford Paperback Encyclopedia* [163]:

÷ *electronegativitatea este o măsură a abilității unui element de a acapara electroni*

÷ *&*

÷ *cel mai electronegativ element este Fluorul iar cel mai puțin este Cesiul.*

Nu există o metodă de măsurare şi formulă unică care să dea expresia electronegativității (elng), există însă mai multe scări de elng calculate pe baza altor mărimi măsurabile, cum ar fi potențialul de ionizare sau afinitatea pentru electron [164]. Diferite valori calculate pentru elng elementelor se pot găsi pe Internet, unele dintre ele prezentate direct în sistemul periodic al elementelor [165-167. În tabelul următor sunt redate valori ale elng calculate pe baza scării de elng a lui Pauli: [168]

Atom	Elng	Atom	Elng	Atom	Elng	Atom	Elng	Atom	Elng
Ac	1.1	Cl	3	Ir	2.2	Pb	1.9	Sr	1
Ag	1.9	Co	1.9	K	0.8	Pd	2.2	Ta	1.5
Al	1.5	Cr	1.6	La-Lu	1.0-1.2	Po	2	Tc	1.9
Ar	2.2	Cu	1.9	Li	1	Pt	2.2	Te	2.1
As	2	Cs	0.7	Mg	1.2	Ra	0.9	Th	1.3
At	2.2	F	4	Mn	1.5	Rb	0.8	Ti	1.5
Au	2.4	Fe	1.8	Mo	1.8	Re	1.9	Tl	1.8
B	2	Fr	0.7	N	3	Rh	2.2	U	1.4
Ba	0.9	Ga	1.6	Na	0.9	Ru	2.2	V	1.6
Be	1.5	Ge	1.8	Nb	1.6	S	2.5	W	1.7
Bi	1.9	H	2.1	Np-No	1.4-1.3	Sb	1.9	Y	1.2
Br	2.8	Hf	1.3	O	3.5	Sc	1.3	Zn	1.6
C	2.5	Hg	1.9	Os	2.2	Se	2.4	Zr	1.4
Ca	1	I	2.5	P	2.1	Si	1.8		
Cd	1.7	In	1.7	Pa	1.4	Sn	1.8		

[163] ***, *Oxford Paperback Encyclopedia*, Oxford University Press, http://www.xrefer.com, /entry/214768
[164] ***, *Wikipedia, The Free Enciclopedia*, http://www.wikipedia.org, /wiki/Electronegativity
[165] http://www.phs.princeton.k12.oh.us/departments/science/ldusch/electronegativity.htm
[166] http://stjohns-chs.org/science/genchem/tables/electronegativities.html
[167] http://www.webelements.com/webelements/properties/text/image-flash/electroneg-allen.html
[168] http://www.ticalc.org/archives/files/fileinfo/190/19049.html

Bibliografie

1. *** Compendiu de Lucrări Practice: Metode fizico-chimice de analiză, Ed. Lumina, Chişinău, 1993.
2. *** Engineering Statistics Handbook, disponibilă pe Internet la site-ul: http://www.itl.nist.gov.div989/handbook/
3. C. Luca, Al. Duca, Al. Crişan, Chimie Analitică şi Analiză Instrumentală, EDP, Bucureşti, 1983.
4. C. Pumnea, I. Dina, Fl. Sorescu, M. Dumitru şi T. Niculescu, Tehnici Speciale de Analiză Fizico-Chimică a Materialelor Metalice, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1988.
5. D.J. Pietrzyk, şi C. W. Frank, Chimie Analitică, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1989.
6. E. Cordoş, Analiză Instrumentală, Univ. Babes-Bolyai, Cluj-Napoca, 1988.
7. E. Selin Lindgren, X-ray Fluorescence Analysis - Energy Dispersive, în Encyclopedia of Analytical Chemistry Editor - Robert A. Meyers, John Wiley & Sons Ltd, Chichester. ISBN 0-471-97670-9 - publicată şi pe Internet.
8. F. Rouessac, A. Rouessac, Analyse Chimique, Methodes et techniques instrumentals modernes, 3^{e} edition, Masson, Paris, 1997.
9. G. Niac şi O. Horovitz, Chimie-Fizică - Îndrumător pentru lucrări de laborator, lito. Institutul Politehnic Cluj-Napoca, Cluj-Napoca, 1982.
10. H. Naşcu, L. Jäntschi, T. Hodişan, C. Cimpoiu and G. Câmpan, Some Applications of Statistics in Analytical Chemistry, Rev. Anal. Chem., 18(6), 409-456 (1999).
11. H. Naşcu, Metode şi Tehnici de Analiză Instrumentală, Ed. U.T.PRES, Cluj-Napoca, 2003.
12. http://207.189.173.115/webdoc3.htg/Docs/00326405.pdf
13. L. Jäntschi, Metrologia şi monitorizarea mediului, Amici, Cluj-Napoca, 2003, 148 p., ISBN 973-85727-2-X.
14. L. Roman, M. Bojiță, R. Săndulescu, Validarea Metodelor de Analiză Instrumentală, Ed. Medicală, Bucureşti, 1998.
15. L. Tovissi şi V. Vodă, Metode Statistice, Ed. Stiințifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1982.
16. Lupu, F. Grigorescu, L. Lupu, Analiza Instrumentală în Metalurgie şi Construcții de Maşini, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1986.
17. M. I. Baritz şi P. Iordache, Măsurarea şi Metrologia Mărimilor Fizico-Chimice, Univ. Transilvania Braşov, 1995.
18. M. Medeleanu şi M. Milea, Îndrumător de Lucrări: Metode Spectroscopice în Chimia Organică, Universitatea Politehnica Timişoara, 1998.

19. M. Pleniceanu, M. Isvoranu, C. Spânu, Chimie Analitică, Reprografia Univ. Craiova, 1998.
20. Potra G. Teodor, Probabilități şi Statistică Matematică. Procese Stochastice, Transilvania Press, Cluj-Napoca, 2003.
21. S. Gocan, Cromatografia de Înaltă Performanță, p. I-a - Cromatografia de Gaze, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1998.
22. S. Gocan, Cromatografie de Înaltă Performanță, p. II-a, Cromatografia de Lichide pe Coloană, Ed. Risoprint, Cluj-Napoca, 2002.
23. T. Hodişan, H. Naşcu, I. Haiduc, C. Cimpoi, Chimie Analitică, Ed. Quo Vadis, Cluj-Napoca, 1997.
24. T. Hodişan, I. Haiduc, C. Cimpoiu, Chimie Analitică, Cartimpex, Cluj-Napoca, 1999.
25. W. Francisc, F. Winter, I. Lazău, I. Menessy şi F. Marx, Metode de Investigație şi de Analiză din Chimia Solidului, Univ. Politehnică Traian Vuia, Timişoara, 1983.

Index

- de cuvinte cheie -

- **Definiții**
  - ÷ abatere standard a mediei de selecție: 12
  - ÷ absorbanță: 99, 113
  - ÷ analiză fizico-chimică: 3
  - ÷ analiză semi-cantitativă: 265
  - ÷ capacitate de separare: 208, 305
  - ÷ coeficient de distribuție: 205
  - ÷ conductivitate echivalentă: 66
  - ÷ conductivitate: 66
  - ÷ constante universale: 312
  - ÷ cuartilă: 293
  - ÷ deplasare chimică: 271
  - ÷ domeniu interquatilic: 293
  - ÷ eficiență: 208, 305
  - ÷ electronegativitate: 314
  - ÷ eroare: 283
  - ÷ exactitate: 11
  - ÷ factor de capacitate: 205
  - ÷ factor de corecție corespunzător căderii de presiune: 225
  - ÷ factor de retenție: 205
  - ÷ factor de separare: 205
  - ÷ frecvență Larmor: 270
  - ÷ indici Miller: 187
  - ÷ intensitatea undei electromagnetice: 91
  - ÷ lățime medie a picurilor la bază: 207, 305
  - ÷ limită de detecție: 14
  - ÷ mărimi cromatografice corectate: 225
  - ÷ mediană: 293, 282
  - ÷ medii: 281
  - ÷ nuclee echivalente: 273, 275
  - ÷ număr de cifre semnificative: 285
  - ÷ număr de talere teoretice: 206
  - ÷ număr de undă: 113
  - ÷ număr efectiv de talere: 207, 305
  - ÷ obiectivul analizei: 10
  - ÷ percentilă: 293
  - ÷ precizie: 12
  - ÷ quantilă: 293
  - ÷ quartilă: 293
  - ÷ randamentul fluorescenței: 159
  - ÷ rapiditatea: 14
  - ÷ retenția relativă: 205
  - ÷ rezistență specifică: 66
  - ÷ rezistivitate: 66
  - ÷ rezoluție: 207, 305
  - ÷ rotație specifică: 178
  - ÷ selectivitate: 12, 211, 309
  - ÷ sensibilitate: 13
  - ÷ serie electrochimică: 64
  - ÷ specificitate: 12
  - ÷ standarde analitice: 16
  - ÷ standarde de referință: 270
  - ÷ stoechiometrie: 19
  - ÷ structura fină: 273
  - ÷ substanțe standard de bază, primar, secundar: 21
  - ÷ termogravimetrie: 86
  - ÷ timp de viață al unei specii moleculare excitate: 155
  - ÷ transmitanță procentuală: 113
  - ÷ transmitanță: 113
- **Întrebări, probleme**
  - ÷ a lumii în care trăim: 291
  - ÷ analiza chimică de amestecuri multicomponente prin IR: 126
  - ÷ analize cantitative prin spectometria de fluorescență X: 189
  - ÷ conductibilitate electrică a substanțelor: 66
  - ÷ cromatografie de afinitate: 237
  - ÷ de separare: 208
  - ÷ de verificare pentru examen: 23, 38, 53, 81, 90, 95, 112, 127, 139, 154, 166, 174, 180, 195, 211, 229, 247, 255, 266
  - ÷ efect de matrice: 304
  - ÷ electrod de calomel: 61
  - ÷ eșantionare: 290, 308
  - ÷ folosire formazină: 173
  - ÷ informație analitică: 3, 10
  - ÷ luare probe de apă: 35
  - ÷ pompe cu presiune constantă: 237

÷ procedeu analitic: 10
÷ speciale în absorbția atomică: 135
÷ standard: 23
÷ teorema Born - Oppenheimer: 115
÷ tratare matematică date: 295

- **Legi, principii, relații, ecuații**
  ÷ adaos standard simplu și multiplu: 79
  ÷ Bayes: 309
  ÷ Boltzmann: 130
  ÷ Born - Oppenheimer: 115
  ÷ Bragg: 186, 303
  ÷ concentrație procentuală de analit: 50
  ÷ conductivitate: 66
  ÷ curent în funcție de timp în potențiostatică: 71
  ÷ Dixon: 294
  ÷ echivalenților: 50
  ÷ eroare de picurare: 47
  ÷ Euler: 283
  ÷ Faraday: 71
  ÷ Fisher: 295, 309
  ÷ Fresnel: 244
  ÷ Gauss: 288
  ÷ Gladstone și Dale: 175
  ÷ Golay: 223
  ÷ Hooke: 116
  ÷ Ilcovič: 75
  ÷ Kirchhoff: 129
  ÷ Kolmogorov: 309
  ÷ LaChance și Trail: 193
  ÷ Lambert-Beer: 101, 102
  ÷ Larmor: 268
  ÷ Lorenz-Lorenz: 176
  ÷ Lucas-Tooth și Paine: 193
  ÷ Maxwell: 176
  ÷ Miller: 187
  ÷ Morse: 117
  ÷ Nernst: 58, 59, 62, 65
  ÷ nivele energia de rotație: 118
  ÷ Ohm: 66
  ÷ potențial de electrod: 60
  ÷ potențial electrodul de sticlă: 62
  ÷ potențiostaticii: 71
  ÷ proporții definite: 19
  ÷ puls-polarografie: 76
  ÷ Randles-Sevcik: 77
  ÷ Rayleigh: 167
  ÷ reacții stoechiometrice: 19
  ÷ refracție: 175
  ÷ retenție selectivă: 36
  ÷ Sherman: 189, 304
  ÷ van Deemter: 209, 214
  ÷ Wald: 309
  ÷ Walsh: 129
- **Noțiuni introductive**
  ÷ polarografie: 73
  ÷ spectrometria de absorbție în infraroșu: 113
  ÷ baze fizice ale spectrometriei în infraroșu: 116
  ÷ spectrometrie de emisie: 141
  ÷ cromatografie de lichide de înaltă performanță: 231
  ÷ calculul mediilor: 281
  ÷ calculul erorilor: 283
  ÷ teoria erorilor: 285, 298
  ÷ statistică: 287
  ÷ teste statistice: 291
  ÷ ecuații de regresie: 294
- **Mărimi**
  ÷ abatere standard a mediei de selecție: 290
  ÷ abatere standard relativă: 290
  ÷ cantitate de electricitate scursă prin celulă: 54
  ÷ caracteristici unei coloane: 205
  ÷ coeficient de variație: 290
  ÷ conductanța soluției din celulă: 55
  ÷ conductivitate echivalentă: 66
  ÷ constante universale: 312
  ÷ cromatografice corectate: 225
  ÷ cuantă de energie: 92
  ÷ deplasare chimică: 270
  ÷ dispersie de selecție: 290
  ÷ eroare relativă procentuală: 284
  ÷ eroare relativă: 284
  ÷ fundamentale în cromatografie: 201
  ÷ intensitate de curent prin celulă: 55
  ÷ Magnetonul lui Bohr: 275
  ÷ medie de selecție: 290
  ÷ număr de grade de libertate: 290
  ÷ potențial de electrod: 55
  ÷ putere calorifică: 3
  ÷ randamentul fluorescenței: 159

- ÷ rezistența soluției din celulă: 55
- ÷ sensibilitate a analizei: 13
- ÷ timp de desfășurare a procesului de electrod: 55
- ÷ turbiditate: 170
- ÷ vâscozitate: 3

- **Metode şi tehnici**
  - ÷ alegerea metodei de analiză: 10
  - ÷ analiza termodiferențială: 87
  - ÷ analiza termogravimetrică: 86
  - ÷ analiză spectrală nucleară: 267
  - ÷ calcul al mărimilor de selecție: 290
  - ÷ calorimetria diferențială: 88
  - ÷ chemiluminescență: 164
  - ÷ chimice şi instrumentale: 10, 17, 39
  - ÷ clasificate în funcție de cantitatea de determinat: 10
  - ÷ colorimetria: 97
  - ÷ comparare a două medii: 292
  - ÷ conductometrie: 66
  - ÷ coulometria amperostatică: 72
  - ÷ coulometria la curent controlat: 72
  - ÷ coulometria la potențial controlat: 71
  - ÷ coulometria potențiostatică: 71
  - ÷ coulometria: 71
  - ÷ cromatografice: 197
  - ÷ cromatografie de gaze: 213
  - ÷ cromatografie de lichide a săracului: 257
  - ÷ cromatografie de lichide de înaltă performanță: 231
  - ÷ cromatografie de repartiție: 236
  - ÷ cromatografie ionică: 236, 249
  - ÷ cromatografie în strat subțire bidimensională: 263
  - ÷ cromatografie în strat subțire: 257
  - ÷ cromatografie pe hârtie: 257
  - ÷ cromatografie planară: 257
  - ÷ cuartării: 31
  - ÷ cuptorului tubular: 136
  - ÷ de separare: 20
  - ÷ electrochimice: 55
  - ÷ electrolitice: 73
  - ÷ eliminare a rezultatelor îndoielnice: 293
  - ÷ elipsometrie: 179
  - ÷ etalonului intern: 228
  - ÷ evaluare a erorii: 298
  - ÷ exactă vs. precisă dar inexactă: 11
  - ÷ extracție cu solvenți aflați în stare supracritică: 34
  - ÷ extracție lichid - lichid prin coloane cu suport solid: 33
  - ÷ factorului de răspuns: 227
  - ÷ fluorescență atomică: 138
  - ÷ fluorescență: 155
  - ÷ fosforescență: 155
  - ÷ fotometrie de flacără: 151
  - ÷ fotometrie: 97
  - ÷ gravimetrie: 39, 41
  - ÷ indicatori de culoare: 46
  - ÷ luminescență: 155
  - ÷ măsurarea conductivității: 67
  - ÷ monitorizarea mediului: 35
  - ÷ nefelometrie: 169
  - ÷ optice de analiză: 91
  - ÷ plasma cuplată inductiv: 149
  - ÷ polarimetrie: 178
  - ÷ polarografie: 73
  - ÷ potențiometrie directă: 57
  - ÷ potențiometrie: 57
  - ÷ precipitare: 39
  - ÷ proiectare monitorizare şi analiză chimică: 4
  - ÷ refractometrie: 175
  - ÷ regresie: 295, 309
  - ÷ Rezonanța electronică de spin: 279
  - ÷ Rezonanță magnetică nucleară: 267
  - ÷ RMN bidimensional: 277
  - ÷ RMN în fază solidă: 278
  - ÷ RMN în puls: 277
  - ÷ schema cu hidrogen sulfurat: 40
  - ÷ spectrofotometrie: 97
  - ÷ spectrometrie de absorbție atomică fără flacără: 136
  - ÷ spectrometrie de absorbție atomică: 129
  - ÷ spectrometrie de absorbție în infraroşu: 113
  - ÷ spectrometrie de emisie: 141
  - ÷ spectrometrie de fluorescență X: 181
  - ÷ spectrometrie fotoacustică: 111
  - ÷ standarde de analiză chimică: 16
  - ÷ standardizare: 16

÷ standardului intern: 228, 307
÷ stoechiometrice şi nestoechiometrice: 18
÷ supresorul electrochimic: 253
÷ termice de analiză: 83
÷ termogravimetrie: 86
÷ termometrie: 83
÷ titrare conductometrică: 69
÷ titrare entalpimetrică: 84
÷ titrare potenţiometrică: 58
÷ titrimetria: 44
÷ topire cu fondanţi: 33
÷ tratare cu acizi: 32
÷ turbidimetrie: 170
÷ vaporilor reci: 136
÷ verificare a ipotezelor statistice: 291
÷ voltametrie ciclică: 77
÷ voltametrie de redizolvare anodică: 78
÷ voltametrie: 73
÷ volumetrie: 45