

Spektrometria Optyczna i Rentgenowska w Analityce

Ćwiczenie

Analityczna Spektrometria Absorpcyjna

Oznaczanie zawartości pierwiastków głównych i śladowych w winie metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA)

1. Wstęp

Absorpcyjna spektrometria atomowa (ASA) opiera się na prawie Kirchoffa zgodnie, z którym każda substancja absorbuje promieniowanie o takiej długości fali, jakie sama może wypromieniować. Podstawą ilościowych oznaczeń metodą AAS jest fakt, iż wielkość absorpcji promieniowania zależy od ilości wolnych atomów w środowisku absorpcyjnym, a liczba ta z kolei zależy od całkowitego stężenia analizowanego pierwiastka w próbce. Najczęściej stosowaną metodą w praktyce analitycznej jest metoda krzywej analitycznej (wzorcowej - kalibracyjnej) w układzie absorpcja – stężenie $A_i = f(C_i)$ oraz metoda dodatku wzorca.

AAS jest metodą analityczną, która charakteryzuje się dużą czułością, selektywnością i prostotą wykonania oznaczenia. Umożliwia oznaczanie szeregu pierwiastków w różnego rodzaju próbkach (próbki żywności, środowiskowe, farmaceutyki, materiały budowlane, popioły, stopy, itd.).

1.1 Oznaczenie zawartości metali w winie

Wino oprócz substancji organicznych (m.in. kwas winowy, kwas cytrynowy, alkohol etylowy, cukier, glicerol, witaminy, kwas octowy, białka) zawiera różne składniki mineralne. Analiza zawartości składników mineralnych w winie jest jednym z elementów dziedziny nauki - *enologii*, która zajmuje się wszelkimi kwestiami związanymi z ustalaniem składu wina, produkcją, przechowaniem oraz uprawą winorośli. Oznaczenie zawartości składników mineralnych (metali) ma zasadnicze znaczenie w badaniu jakości wina oraz jego pochodzenia.

Składniki mineralne (metale) zawarte w winie są dwoistego pochodzenia:

1. Metale, które wchodzi w skład winogron np. K, Mg, Na, Ca, mikroelementy: Fe, Zn, Mg, Cu, Co – pełniące ważne funkcje w diecie człowieka
2. Metale, które są wprowadzane „sztucznie” podczas procesów technologicznych wyrobu wina jak w wyniku stosowania środków fitosanitarnych lub w wyniku zanieczyszczeń środowiska (np. Cu, Pb, Zn, Sn, Al).

Potas – jest najważniejszym metalem występującym w winie, ma on zasadniczy wpływ na strącanie kwasu winowego jak i na kwaśnienie win.

Wapń – Oznaczenie wapnia ma zasadnicze znaczenie w przewidywaniu strącania kwasu winowego w butelce.

Magnez – występuje on w zawartości przeważnie większej niż wapń i podobnie jak wapń ma ważne znaczenie w strącaniu koloidów.

Sód – występuje w stosunkowo małych ilościach w winie. Jego zawartość rośnie dla winnic położonych w pobliżu morza

Żelazo - pochodzi przede wszystkim z winogron a także z zanieczyszczeń. Zawartość żelaza jest ważna w badaniu klarowności wina.

Miedź – zawartość tego pierwiastka w głównej mierze jest związana z stosowaniem środków fitosanitarnych jak i procesami technologicznymi. Zawartość miedzi w winie jest ważna w badaniu klarowności.

Mangan – zawartość tego pierwiastka jest związana bardzo często z glebą, na której była uprawiana winorośl.

Cynk - pochodzi w głównej mierze z zanieczyszczeń, wprowadzanych w procesie produkcji wina. Cynk w małych stężeniach jest pierwiastkiem potrzebnym do wzrostu organizmów żywych. Przy wyższych stężeniach cynk jest jednak szkodliwy dla organizmów.

Średnią zawartość metali w winie zebrano w tabeli 1.

K	100 – 1700 ppm
Mg	50 – 200 ppm
Ca	100 – 200 ppm
Na	5 – 400 ppm
Cu	0,2 – 2 ppm
Fe	5 – 30 ppm
Mn	0,5 – 15 ppm
Al	0,3 – 1,5 ppm
Pb	0,025 – 0,4 ppm
Zn	0 – 0,5 ppm
Rb	0,2 – 4 ppm

Tab 1 Średnia zawartość metali w winie [1].

W oparciu o bazy dane i dostępną literaturę podobne opracowanie proszę przygotować dla miodów pszczelich.

2. Oznaczanie zawartości metali w winie/miodzie pszczelichm .

2.1 Roztworzenie próbki wina/miodów na drodze mokrej.

20 cm³ wina umieścić w zlewce o pojemności 150 ml i delikatnie pogrzać na łaźni piaskowej w celu usunięcia alkoholu etylowego. Następnie dodać porcjami 5cm³ stężonego kwasu azotowego i prowadzić ogrzewanie, aby zatężyć roztwór po roztworzeniu. W momencie, gdy roztwór będzie brunatniał, dodać stężonego kwasu azotowego kropla po kropli. Roztworzenie kończy się z chwilą, kiedy roztwór już nie brunatnieje. W celu dalszego rozkładu próbek do analizowanych roztworów można dodawać porcjami 5 cm³ stężonego nadtlenu wodoru. Następnie roztwór należy oziębic i dodać 15 cm³ wody destylowanej a następnie ogrzać aż do momentu pojawienia się białych dymów. Produkt po roztworzeniu **przenieś ilościowo** do kolbki miarowej o pojemności 50 cm³ i dopełnia wodą redestylowaną do kreski. Równoległe z podaną procedurą należy przygotować tzw. „ślepej próbej”. Dodatkowo należy przygotować *nie roztworzone* próbki wina zakwaszone kwasem azotowym (5 % V/V).

2.2 Przygotowanie roztworów wzorcowych.

Dysponując odpowiednimi metalami i kwasami i/lub solami metali należy sporządzić roztwory podstawowe K, Mg, Ca, Cu, Mn, Zn, Fe o stężeniu 1000 µg/cm³. W tym celu należy do kolb miarowych o obj. 50 cm³ wprowadzić odpowiednią ilość soli lub roztworzonego metalu (**wcześniej obliczoną i zważoną!**). Następnie dodać wodę demineralizowaną i ok. 1 cm³ stężonego kwasu azotowego i wymieszać. Roztwory należy uzupełnić wodą do kreski a następnie znowu wymieszać.

Z tak przygotowanych roztworów podstawowych, należy sporządzić roztwory wzorcowe metali w kolbach o pojemności 50 cm³, umożliwiające wykonanie krzywej wzorcowej składającej się z 4-5 punktów pomiarowych dla każdego z analizowanego pierwiastka. W oparciu o zakresy pomiarowe krzywej wzorcowej (patrz tabela 2) należy zaproponować jak przygotować 4-5 roztworów wzorcowych oraz obliczyć odpowiednie rozcieńczenia roztworów podstawowych.

Do 4-5 kolb o pojemności 50 cm³ wprowadzić wcześniej wyliczone ilości roztworu podstawowego metalu. A następnie do każdej kolby dodać 25 cm³ wody demineralizowanej i 1 cm³ stężonego kwasu azotowego. Roztwory wymieszać i uzupełnić wodą do kreski, a następnie znowu wymieszać. Procedurę ww. przeprowadzić dla każdego analizowanego pierwiastka.

Pierwiastek	Zakres pomiarowy krzywej wzorcowej [µg/cm ³]
K	0,5 – 2
Ca	1 – 5
Mg	0,1 – 0,5
Cu	1 – 5
Zn	0,2 – 1
Mn	1 – 3
Fe	1 – 5

Tab. 2. Zakres pomiarowy krzywej wzorcowej dla analizowanych pierwiastków

2.3 Wyznaczanie zawartości metali w winie/miodzie pszczelim

Oznaczanie zawartości pierwiastków w winie/miodzie wykonać na spektrometrze absorpcyjnym metodą krzywej wzorcowej stosując odpowiednie lampy. Zmierzyć absorpcję roztworów wzorcowych, a następnie zmierzyć absorpcje wybranych metali dla ślepej próby i analizowanych próbek. stosując płomień acetylenowo – powietrzny. W przypadku przekroczenia dla danego metalu zakresu pomiarowego krzywej wzorcowej analizowaną próbkę należy odpowiednio rozcieńczyć. *Pomiary absorbancji dla ślepej próby oraz dla roztworów analizowanych należy zmierzyć dziesięć razy !*

W celu sporządzenia wykresu krzywej wzorcowej w układzie współrzędnych C-A (stężenie C w µg/cm³) nanieść punkty pomiarowe *zmierzonej absorbancja* (A) i aproksymować prostą postaci A=bC+d, stosując metodę najmniejszych kwadratów lub korzystając z odpowiedniego modułu programu statystycznego lub arkusza kalkulacyjnego. Wykresy krzywych wzorcowych jak i znalezione równania regresji liniowej punktów pomiarowych, współczynniki R² zamieścić w sprawozdaniu. Na podstawie równania krzywej wzorcowej/pomiarów wyznaczyć czułość, granicę wykrywalności oraz stężenie charakterystyczne dla analizowanych pierwiastków (patrz dodatek A).

Następnie w oparciu o wyznaczone krzywe wzorcowe obliczyć w analizowanym winie zawartości metali w µg/cm³ i w mmol/dm³ (w obliczeniach uwzględnić zawartości analizowanych metali w ślepej próbce oraz rozcieńczenia oraz odchylenia standartowe! – patrz dodatek C). Wynik końcowy podać jako wartość średnią wraz ze względnym odchyleniem standardowym (wyniki odstające odrzucić korzystając z testu Q-Dixona). Korzystając z testu t-Studenta podać przedział ufności wartości średniej przy założeniu 95% poziomu ufności (patrz dodatek B).

2.4 Sprawozdanie

Sprawozdanie z ćwiczenia powinno zawierać krótki opis stosowanej metody analitycznej, opis ćwiczenia., wszystkie wyniki, obliczenia, wykresy, krytyczną ocenę wyników oraz wnioski. We sprawozdaniu powinna być dyskusja wyznaczonych parametrów opisujących metodę analityczną oraz pomiar, tj. czułość metody, granica wykrywalności oraz stężenie charakterystyczne. Proszę także załączyć informacje o możliwych interferencjach. Dodatkowo proszę porównać wyznaczone koncentracje z wartościami literaturowymi dla innych próbek miodów (korzystając z bazy SCOPUS).

Literatura zalecana:

1. M. Pinta, *Absorpcyjna Spektrometria Atomowa – zastosowania w analizie chemicznej*, Wyd. PWN, Warszawa 1977
2. W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1985
3. B. Weltz, M. Spearling, *Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley –VCH, 1999, Berlin

Dodatek A

Czułość metody (b) dla poszczególnych pierwiastków można wyliczyć w oparciu o współczynnik kierunkowy krzywej wzorcowej.

Granica wykrywalności (G_w) można opisać wzorem: $G_w = 3\sigma_s/b$, gdzie: b jest czułością metody, a σ_s jest odchyleniem standardowym dla n - pomiarów ślepej próby.

Stężenie charakterystyczne (C_{ch}) jest określane jako stężenie pierwiastka wymagane do osiągnięcia sygnału o wartości 1% absorpcji tj. 0,0044 jednostek umownych absorbancji. Można je obliczyć zgodnie ze wzorem: $C_{ch} = C_0 * 0,0044 / A_0$. Gdzie C_0 i A_0 – są to odpowiednio stężenie standardowe oraz zmierzona absorbancja.

Dodatek B

Przedział ufności średniej arytmetycznej jest zakresem obejmującym średnią arytmetyczną X , o którym można powiedzieć, że przy założonym prawdopodobieństwie p wartość prawdziwa μ jest w nim zawarta:

$$\mu = X \pm t s_r$$

gdzie: t jest współczynnikiem Studenta dla określonego prawdopodobieństwa p i danej liczby stopni swobody k , s_r natomiast średnim odchyleniem standardowym dla n pomiarów.

n	$k=n-1$	t		
		$p=0,90$	$p=0,95$	$p=0,99$
2	1	6,31	12,71	63,66
3	2	2,92	4,30	9,92
4	3	2,35	3,18	5,84
5	4	2,13	2,78	4,60
6	5	2,01	2,57	4,03
7	6	1,94	2,45	3,71
8	7	1,89	2,37	3,50
9	8	1,86	2,31	3,36
10	9	1,83	2,26	3,25

Dodatek C

Propagacja błędu

Działanie	Przykład	Odchylenie standardowe
Dodawanie lub odejmowanie	$X = a+b-c$	$s_x = (s_a^2 + s_b^2 + s_c^2)^{1/2}$
Mnożenie lub dzielenie	$X = a*b/c$	$s_x = x * ((s_a/a)^2 + (s_b/b)^2 + (s_c/c)^2)^{1/2}$
Potęgowanie	$X = a^b$	$s_x = x * b * (s_a/a)$
Logarytmowanie	$X = \ln(a)$	$s_x = s_a/a$
	$X = \log(a)$	$s_x = 0,434 * (s_a/a)$