

ΑΣΚΗΣΗ 13

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΣΕ ΕΝΕΣΙΜΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ

Σκοπός της άσκησης

- Η εισαγωγή των φοιτητών στη χρήση και λειτουργία του φασματομέτρου ατομικής απορρόφησης
- Η εξοικείωσή τους με τις έννοιες ατομική απορρόφηση, νόμος του Beer στη ΦΑΑ, φυσικές παρεμποδίσεις στη ΦΑΑ και τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας
- Η εξοικείωσή τους με την προετοιμασία δειγμάτων για τον προσδιορισμό μετάλλων με οπτικές μεθόδους, και συγκεκριμένα της φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης και ατομικής εκπομπής
- Η εξοικείωσή τους με τεχνικές φυσικού διαχωρισμού, όπως η φυγοκέντριση

Τι θα πρέπει να έχουμε μελετήσει πριν έρθουμε στο εργαστήριο

Για περισσότερες πληροφορίες ανατρέξτε στα **Κεφάλαια 8 και 9** του βιβλίου «Αρχές της Ενόργανης Ανάλυσης» των Skoog – Holler – Nieman (Μτφ Μ. Καραγιάννης, Κ. Ευσταθίου, Ν. Χανιωτάκης).

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης στηρίζεται στη μέτρηση της **απορρόφησης** ακτινοβολίας χαρακτηριστικού μήκους κύματος (γραμμική), από ελεύθερα ουδέτερα άτομα μετάλλων που βρίσκονται στην αέρια κατάσταση. Η διαδικασία σχηματισμού αερίων ατόμων των μετάλλων είναι η ίδια όπως και στην άσκηση 12. Δηλαδή διάλυμα του μεταλλοιόντος ψεκάζεται σε φλόγα, οπότε ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη, τήξη του στερεού άλατος, εξαέρωση του και διάσπαση σε άτομα. Η θερμοκρασία της φλόγας δεν παρέχει αρκετή ενέργεια και για να διεγερθούν. Η διέγερση τους μπορεί να γίνει με απορρόφηση **μονοχρωματικής** ακτινοβολίας χαρακτηριστικού μήκους κύματος.

Η απορρόφηση της ακτινοβολίας υπακούει στο νόμο του Beer, που στην περίπτωση των απορροφούντων ατόμων γράφεται με τη μορφή

$$A = \log(P_0/P) = 0,434k_v b = k' b N_0 = k'' C$$

Ο συντελεστής απορρόφησης (k_v) εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και από τις πειραματικές συνθήκες (θερμοκρασία φλόγας, διαλύτης, ταχύτητα ψεκασμού κλπ).

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ινσουλίνη είναι φυσική ορμόνη που παράγεται στο πάγκρεας και ρυθμίζει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Σε παθολογικές καταστάσεις, για την αντιμετώπιση του σακχαρώδους διαβήτη, χορηγείται ως ενέσιμο φάρμακο. Ο Zn εισάγεται στην ινσουλίνη με τη μορφή $ZnCl_2$ και με τρόπο ώστε η στερεά φάση του σκευάσματος να αποτελείται από μίγμα κρυσταλλικής και άμορφης ινσουλίνης σε αναλογία 7:3. Η ινσουλίνη του εμπορίου κυκλοφορεί σε συσκευασίες των 40, 80 και 100 USP iu (insulin units) και η συνήθης περιεκτικότητα σε ψευδάργυρο είναι 0,12-0,25 mg/100 USP iu.

Ο προσδιορισμός του ψευδαργύρου γίνεται με μέτρηση της ατομικής απορρόφησης των διαλυμάτων στα 213,9 nm με φασματομέτρο ατομικής απορρόφησης PERKIN-ELMER 2380 και υπολογισμό της περιεκτικότητας από καμπύλη βαθμονόμησης προτύπων διαλυμάτων ψευδαργύρου, σε φλόγα ακετυλενίου-αέρα.

3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Πρότυπο διάλυμα που περιέχει 10 mg Zn/L
2. Σειρά προτύπων διαλυμάτων που περιέχουν 0,500, 1,00, 1,50 και 2,00 mg Zn /L. Παρασκευάζονται σε ογκομετρικές φιάλες 100 mL με παραλαβή κατάλληλου όγκου από το διάλυμα 1, προσθήκη 1 mL HCl 1 M και αραιώση με νερό μέχρι τη χαραγή.
3. Διαλύματα HCl 1M και 0,1 M.

4. ΟΡΓΑΝΑ

1. Φασματο(φωτό)μετρο Ατομικής Απορρόφησης Perkin-Elmer Model 2380
2. Λυχνία κοίλης καθόδου Zn-Ca
3. Φιάλη ακετυλενίου με μειωτήρα πίεσης
4. Συμπιεστής αέρα (κομπρεσέρ)
5. Φυγόκεντρος

Προσδιορισμός ψευδαργύρου σε ινσουλίνη

1. Ελεύθερος (κρυσταλλικός ψευδάργυρος)

Με τη βοήθεια σύριγγας, λαμβάνονται 3 mL σκευάσματος, μεταφέρονται σε σωλήνα φυγόκεντρο. Σε άλλο σωλήνα μεταφέρονται 3 mL νερού και οι δύο σωλήνες τοποθετούνται σε αντικρυστές θέσεις στη φυγόκεντρο και φυγοκεντρώνονται για 5 min στα 4000g (αν το υπερκείμενο υγρό δεν είναι διαυγές, επαναλαμβάνεται η φυγοκέντρηση). Με αυτόματη πιπέττα λαμβάνεται 1 mL από το υπερκείμενο υγρό, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη 100 mL, προστίθεται 1 mL HCl 1 M (με ογκομετρικό κύλινδρο) και αραιώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή (Διάλυμα Α)

2. Ολικός ψευδάργυρος

Με τη βοήθεια σύριγγας, λαμβάνεται 1 mL σκευάσματος και μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη 100 mL, προστίθεται 1 mL HCl 1 M (με ογκομετρικό κύλινδρο) και αραιώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή (Διάλυμα Β)

3. Μέθοδος προσθήκης γνωστής ποσότητας

Σε 5 πλαστικά φιαλίδια μεταφέρονται από 3,00 mL του διαλύματος Β και κατόπιν στο πρώτο φιαλίδιο προστίθενται 5,00 mL νερού, στά δε υπόλοιπα 5,00 mL από τα πρότυπα 0,500, 1,00, 1,50 και 2,00 mg/L, αντίστοιχα.

Εκτέλεση του προσδιορισμού

Προετοιμασία του οργάνου

1. Στρέφουμε τα κουμπιά GAIN και LAMP πλήρως προς τα αριστερά.
2. Τοποθετούμε το POWER στο ON.
3. Στρέφουμε το κουμπί SIGNAL στη θέση LAMP και στρέφουμε το κουμπί LAMP μέχρις ότου στην οθόνη LAMP/GAIN εμφανισθεί η τιμή 15 (mA).
4. Στρέφουμε το κουμπί SIGNAL στη θέση SET UP και στρέφουμε το κουμπί GAIN μέχρις ότου στην οθόνη LAMP/SIGNAL εμφανισθεί η τιμή 30.
5. Τοποθετούμε το κατάλληλο μήκος κύματος (213,9 nm) και με τα κουμπιά COARSE ADJUST και FINE COARSE ρυθμίζουμε ώστε να ληφθεί η μεγαλύτερη ένδειξη στο GAIN, και ρυθμίζουμε το εύρος σχισμής (0,7 nm).
6. Ρυθμίζεται η ακριβής θέση της λυχνίας κοίλης καθόδου με τους δύο κοχλίες που υπάρχουν στο στήριγμα της, ώστε η ενέργεια στο GAIN να λάβει τη μέγιστη τιμή.
7. Στρέφουμε το κουμπί SIGNAL στη θέση ABS και τοποθετώντας ένα χαρτί στην πορεία της δέσμης ακτινοβολίας ελέγχουμε αν υπάρχει απόκριση.
8. Ρυθμίζουμε το GAIN στην τιμή 70.
9. Ρύθμιση του καυστήρα: Η βέλτιστη θέση του καυστήρα ελέγχεται τοποθετώντας ένα χαρτόνι με μια κάθετη γραμμή έτσι ώστε η φωτεινή κηλίδα από τη λυχνία να πέφτει πάνω στην κάθετη γραμμή. Αν αυτό δεν συμβαίνει, κατεβάζουμε λίγο τον καυστήρα, ώστε η δέσμη της ακτινοβολίας να βρίσκεται μερικά mm πάνω από την σχισμή του καυστήρα. Με το κουμπί SIGNAL στη θέση Abs πιέζουμε το πλήκτρο AZ. Στη συνέχεια ανεβάζουμε τον καυστήρα ώστε να κόψει τη δέσμη και στη συνέχεια τον κατεβάζουμε μέχρι να εμφανισθεί στην οθόνη 000. Στη συνέχεια στρέφουμε τον κοχλία του καυστήρα κατά μισή στροφή.
10. Συνδέουμε τον συμπιεστή αέρα (κομπρεσέρ) με το ρεύμα.
11. Ρυθμίζεται η παροχή του αέρα στην τιμή 40 και στη συνέχεια ανοίγεται η στροφιγγα του ακετυλενίου και ρυθμίζεται η παροχή του στην τιμή 20.
12. Η στροφιγγα του αέρα τοποθετείται στη θέση αέρας ON και ανυψώνεται η βαλβίδα του ακετυλενίου.

13. Πιέζουμε το κουμπί IGNITE για τη φλόγα (πρέπει ο απαγωγός του Εργαστηρίου να είναι σε λειτουργία).
14. Θέτουμε το κουμπί SIGNAL στη θέση ABS και πιέζουμε το κουμπί AZ.
15. Ρυθμίζουμε το ρυθμό εμφάνισης του σήματος ατομικής απορρόφησης στην οθόνη, πιέζοντας ένα αριθμητικό πλήκτρο (3) και στη συνέχεια το πλήκτρο t. Με τον τρόπο αυτό στην οθόνη θα εμφανίζεται νέα τιμή απορρόφησης κάθε 3 s.

Μετρήσεις απορρόφησης

Αναρροφάται τυφλό διάλυμα (HCl 0,01 M) και μηδενίζουμε πιέζοντας το πλήκτρο AZ. Στη συνέχεια αναρροφάται το πρώτο πρότυπο διάλυμα, μέχρις ότου δύο διαδοχικές ενδείξεις απορρόφησης δεν διαφέρουν. Ακολουθεί η αναρρόφηση και μέτρηση των υπολοίπων προτύπων, του διαλύματος ινσουλίνης A και του διαλύματος B. Στη συνέχεια, αναροφούνται τα διαλύματα για την καμπύλη προσθήκης γνωστής ποσότητας

Όταν μετρηθούν όλα τα διαλύματα, αναροφάται τυφλό διάλυμα, κλείνεται η παροχή του ακετυλενίου (πρώτα η στροφιγγα της φιάλης και μετά το μηδενισμό της παροχής, η βαλβίδα στο ροόμετρο). Βγάζουμε το κομπιούτερ από την πρίζα, στρέφουμε τα κουμπιά LAMP και GAIN πλήρως προς τα αριστερά και το κουμπί POWER στο OFF.

Υπολογισμός του ψευδαργύρου στην ινσουλίνη

Από τις τιμές απορρόφησης των προτύπων κατασκευάζουμε την καμπύλη βαθμονόμησης $A=f(C)$ και από αυτήν υπολογίζεται η συγκέντρωση του ελεύθερου (κρυσταλλικού) και του ολικού ψευδαργύρου στα διαλύματα A και B και στη συνέχεια στο αρχικό σκεύασμα. Από τις τιμές απορρόφησης της σειράς των διαλυμάτων γνωστής προσθήκης, κατασκευάζεται η καμπύλη βαθμονόμησης της μεθόδου γνωστών προσθηκών (σελ.19 του κεφ. 1 του βιβλίου «Αρχές της Ενόργανης Ανάλυσης» των Skoog – Holler – Nieman (Μτφ Μ. Καραγιάννης, Κ. Ευσταθίου, Ν. Χανιωτάκης)), υπολογίζεται η συγκέντρωση του ολικού ψευδαργύρου στο αντίστοιχο διάλυμα και στη συνέχεια στο αρχικό σκεύασμα. Συγκρίνονται οι δύο τιμές (με τη μέθοδο βαθμονόμησης και μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας). Σχολιάζονται τα αποτελέσματα ως προς την ακρίβεια τους.