

Arh. hig. rada, 14 (1963) 119

PLAMENA FOTOMETRIJA U SLUŽBI MEDICINSKE KEMIJE

K. WEBER

Zavod za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Zagrebu

(Primljeno 10. VIII 1963)

Prikazana je s aparativne i metodičke strane plamena fotometrija, koja se danas mnogo upotrebljava za kvantitativno određivanje alkalijskih, zemnoalkalijskih i drugih lakih kovina. Naveden je princip metode, opisani su razni aparati, koji danas služe za izvedbu takvih analiza, dane su upute za rad po pojedinim metodama plamene fotometrije, diskutirana je tačnost određivanja, koja se može postići tom fotometrijom u praksi, te je citirana literatura na kojoj se osniva ovaj prikaz. Kao posebni oblik plamene fotometrije navedena je ukratko atomska apsorpciona spektrofotometrija.

I. UVOD

Plamena fotometrija je zaseban oblik spektralne emisije analize, koji je karakteriziran time, da se pri izvedbi postupka uzorak analize nalazi u izvoru svjetla, u plamenu, a fotometrijski se mjeri jakost emitiranog svjetla u tom plamenu. Svjetlo emitiraju *termički* ekscitirani (aktivirani, podraženi) atomi uzorka analize, te između jakosti emisije i koncentracije tvari, koja se analitički određuje, postoji redovito – pri stalnim standardnim uslovima rada – jednostavni funkcionalni odnos. Tako je dana mogućnost, da se na temelju baždarnih krivulja, dobivenih mjerenjima sa standardnim otopinama poznatih koncentracija, vrše fotometrijska kvantitativna određivanja.

U plinski plamen se jednostavno unášaju razmjerno lako hlapive tvari, a termički se mogu pri temperaturi plamena ekscitirati atomi onih elemenata, čija je *ekscitaciona energija* dovoljno malena. Ekscitaciona energija u konkretnom slučaju je ona energija, koja je potrebna za prijelaz valencijskog elektrona dotičnog atoma iz normalnog (temelnog) kvantnog stanja u prvo kvantno stanje ekscitacije više energije. Ako se energija atoma u normalnom stanju označi s E_n , a energija u ekscitiranom stanju s E_a , vrijedit će za ekscitacionu energiju izraz:

$$e \cdot U_a = E_a - E_n \quad (1)$$

u kojem je e elementarni naboj elektrona ($1,602 \cdot 10^{-19}$ Coulomb) a U_a je ekscitacioni napon u voltima. Prema tome se ekscitaciona energija mjeri u *elektronvoltima* (eV), a ova jedinica za atomarnu energiju je definirana kao ona kinetička energija, koju elektron prima kada se ubrzava naponom od 1 volta. U tablici 1. navedene su brojčane vrijednosti ekscitacione energije za neke elemente.

Tablica 1.

Ekscitaciona energija ($e U_a$) raznih elemenata za određene dužine vala (λ) emitiranog svjetla

Element	$e U_a$ elektronvolt	λ m μ
Cs	1,38	894,45
Rb	1,6	794,76
K	1,610	769,89
Li	1,8	670,78
Na	2,102	589,59
Ba	2,2	553,55
Mn	3,1	403,08
Al	3,1	396,15
Cr	3,3	520,84
Cd	3,73	326,11
Pb	4,4	405,78
Hg	4,67	253,65
Mg	5,1	518,36
Cu	6,2	515,32
H	12,0	656,28

Za upotrebu plamene fotometrije za određivanje pojedinih elemenata postoje dakle dva glavna uvjeta: razmjerno laka hlapivost i niska ekscitaciona energija. Ove uvjete naročito dobro daju alkalijske i zemno-alkalijske kovine, ali i neke druge lake kovine. U medicinsko kemijskoj analizi upravo kvantitativno određivanje tih kovina zaslužuje naročiti interes. To izričito vrijedi za određivanje natrija, kalija i kalcija u serumu (plazmi), urinu i drugom biološkom materijalu. Ovamo spada i plameno fotometrijsko određivanje radioaktivnog stroncija i sličnih kovina u biološkom i drugom materijalu. Kod rada na polju kemijske toksikologije naročito dolazi u obzir određivanje talija, cinka, bakra i nekih drugih otrovnih kovina, primjenom plamene fotometrije. Specijalnim postupcima plamene fotometrije omogućeno je kvantitativno određivanje skoro svih elemenata.

Ekscitirani atomi elemenata u plamenu emitiraju *linijski spektar* s manjim ili većim brojem diskretnih spektralnih linija, a pri izvedbi

plamene fotometrije se fotometrijski mjeri intenzitet pojedinih spektralnih linija (analiznih linija). Ove spektralne linije se prema tome moraju optički izolirati, da ne bi fotometar registrirao sumu intenziteta više spektralnih linija, jer plamen istovremeno emitira linije svih elemenata, koje se nalaze u njemu. Izolacija spektralnih linija se postizava: 1. optičkim filtrima ili 2. monokromatorom s prizmom odnosno rešetkom. Prema ovim optičkim uređajima se i razlikuju dva tipa plamenih fotometara, pri čemu je značajno, da primjena optičkih filtara dolazi u obzir skoro isključivo za vidljivi dio spektra. To međutim nije naročita mana, jer niska ekscitaciona energija uvjetuje emisiju u vidljivom dijelu spektra. Energija svjetla se naime smanjuje s porastom dužine vala. Zbog toga se plamena fotometrija najviše upotrebljava u vidljivom spektralnom području.

Plamena fotometrija se praktički veoma uspješno upotrebljava kao analitička metoda iz više razloga. Postupak prije svega je jednostavan i veoma brz u izvedbi. Kada je aparatura postavljena i baždarena, mjerni postupak za jedan analizni uzorak traje svega nekoliko minuta. Mjerenja se mogu često vršiti izravno na uzorcima analize, odnosno nakon jednostavne kemijske ili fizikalne obradbe uzorka (dodavanje nekih kemikalija ili reagensa, jednostavno razrjeđenje). Postupak analize je selektivan, rijetko smeta prisutnost drugih tvari u uzorku. To naročito vrijedi za rad s fotometrima s monokromatorima. Plamenoj fotometriji pripada veoma velika osjetljivost dokazivanja i određivanja dotičnih elemenata. Ta osjetljivost varira doduše u širokim granicama,

Tablica 2.

Granične koncentracije (c, dijelovi elementa na milijun dijelova uzorka, p. p. m.) i dužine vala (λ) za određivanje elemenata plamenom fotometrijom (10)

Element	λ m μ	c p. p. m.	Element	λ m μ	c p. p. m.
Al	484,2	32	Mg	285,2	0 09
Cu	324,8	0 1	Mn	403,3	0 02
Ba	493,4	0 2	Na	589,0	0 0001
Cs	852,1	1,0	Ni	352,5	0,3
Cd	326,1	11	Pb	405,8	12
Ca	422,7	0 003	Rb	780,0	0 05
K	766,5	0 001	Ag	328,1	0 1
Co	352,7	0 5	Sr	460,7	0 002
Cr	425,4	0 3	V	550,0	0 2
Li	670,8	0,0001	Fe	372,0	0,4

već prema naravi dotičnog elementa, ali baš je vanredno velika za elemente, koji su važni u medicinsko kemijskoj analizi. Granična koncentracija za određivanje natrija ima npr. vrijednost od svega 0,0001 p. p. m. (parts per million, dijelova natrija od milijun dijelova uzorka).

Za kalij ta koncentracija ima vrijednost 0,001 p. p. m., a za kalcij 0,003 p. p. m. U tablici 2. navedene su granične koncentracije za određivanje raznih elemenata primjenom plamene fotometrije, uz naznaku dužine vala emisione linije dotičnog elementa, koja se upotrebljava za fotometriiranje (10).

U ovom članku prikazat će se plamena fotometrija u aparativnom u metodičkom pogledu, a naročito s obzirom na primjenu u analitičkoj kemiji za potrebe medicinske prakse i nauke.

2. APARATURA ZA PLAMENU FOTOMETRIJU

Normalna aparatura za plamenu fotometriju sastavljena je od ovih dijelova: 1. boce s komprimiranim plinovima i uređaj za mijenjanje i mjerenje plinskog tlaka, 2. plamenik s raspršivačem i 3. fotometar (spektralni) za određivanje jakosti svjetla plamena. Pojedini dijelovi aparata mogu biti, već prema modelu fotometra i upotrebljene metode rada, različito konstruirani, a ovdje će se navesti princip onih uređaja, koji se praktički najviše upotrebljavaju.

Kao gorivi plinovi za plamenu fotometriju dolaze u obzir: acetilen, rasvjetni plin, butanplin, benzinski plin i vodik. Ovi gorivi plinovi se kombiniraju u plameniku s komprimiranim zrakom ili kisikom. Prema kombinaciji tih plinovi dobije se u plamenu viša ili niža temperatura.

Tablica 3.

Najviše temperature (t) plamena s različitim plinskim smjesama (7)

Gorivi plin	% plina	t u °C
Benzinski plin - zrak	12,2	1068
Propan - zrak	4,1	1925
Rasvjetni plin - zrak	17,6	1918
Vodik - zrak	31,6	2045
Acetilen - zrak	9,0	2325
Vodik - kisik	78,0	2660
Rasvjetni plin - kisik	65,0	2730
Acetilen - kisik	44,0	3135

U tablici 3. navedene su najviše temperature plamena, koje se mogu dobiti s ovim plinskim smjesama (7). Pri laboratorijskom radu se plinovi uzimaju iz čeličnih boca u kojima se nalaze u komprimiranom stanju. Za plamenu fotometriju potrebno je imati jednu bocu s gorivim plinom i jednu s komprimiranim zrakom ili kisikom. Zrak ili kisik komprimiran je u bocama do pretlaka od 150 atm., a čvrstoća boce mora biti ispitana do pretlaka od 400 atm. Ima boca različitih veličina, te se preporuča nabaviti veće boce, npr. od 40 l. Kada se radi s komprimi-

ranim zrakom, čeličnu bocu za zrak može nadomjestiti odgovarajući motorni kompresor. Acetilen se često nalazi u čeličnim bocama kao otopina u acetonu. Maksimalni pretlak acetilena je 15 atm. Na čelične boce treba postaviti odgovarajući *redukциони ventil*, koji se sastoji od manometra za mjerenje tlaka plina u boci, od uređaja za redukciju tlaka na poželjnu vrijednost, manometra za mjerenje tlaka pod kojim plin izlazi preko ventila iz boce, te pipca, koji zatvara ventil. Redukcioni ventil potreban je zato, da bi mogli regulirati i tačno podešavati plinski tlak pod kojim gorivi plin, kao i komprimirani zrak, odnosno kisik ulazi u plamenik. Tlak jednog i drugog plina utječe na intenzitet emitiranog svjetla u plamenu. Zbog toga mora postojati mogućnost, da se ovi tlakovi precizno mijenjaju prema potrebi, te da se i tačno izmjere. Za mjerenje tlaka plina pod kojim ulazi u plamenik nije dovoljno precizan manometar na redukcionom ventilu. Zato plameni fotometar ima još dva manometra veće preciznosti, koji su postavljeni iza redukcionog ventila. Jedan mjeri tlak gorivog plina, a drugi tlak zraka ili kisika neposredno prije ulaska u raspršivač plamenika. Ovi precizni manometri mogu biti instrumenti s kazaljkom ili pak manometri s tekućinom (vodom) u staklenoj cijevi. U prvom slučaju se tlak mjeri u kg/cm^2 , a u drugom slučaju u mm vodnog stupca. Vrlo je važno da se pri izvedbi analize s plamenim fotometrom uvijek radi s određenim plinskim tlakovima, čija se visina, koja predstavlja standardnu vrijednost postupka analize, odredi eksperimentalno za svaku vrst mjerenja posebno.

Potrebno je spomenuti, da navedeni gorivi plinovi s kisikom (zrakom) stvaraju eksplozivne plinske smjese. Plameni fotometri su tako građeni da kod ispravnog postupka s njima ne mogu nastati plinske eksplozije. Kada se međutim ne postupa s plinskim uređajem aparata strogo po uputama, može doći i do takve eksplozije, koje će prouzročiti veću štetu. Pojedini dijelovi plinskog uređaja, naročito i raspršivač, građeni su za određenu plinsku kombinaciju, npr. za acetilen i zrak ili za vodik i kisik, a načelno se ne može upotrebljavati takav uređaj za bilo koju drugu plinsku kombinaciju. U tom pogledu naročito je potrebno da se drži uputa proizvođača plamenog fotometra.

Plamenik fotometra s raspršivačem ima četiri dijelova. To su raspršivač (atomiser) otopine za analizu, komorica za sedimentaciju kapi tekućine, posudica za miješanje plinova i plamenik. Raspršivač ima zadatak, da u struji zraka ili kisika rasprši otopinu, koja se analizira. Ta važna sprava može raditi po različitim principima (3), međutim veoma često se upotrebljavaju obični raspršivači tekućina utjecajem struje zraka. Po poznatom principu u tekućini, koja se rasprši, nalazi se uspravna kapilarna cijev s uskim gornjim otvorom, preko kojeg prelazi (duva) zrak ili kisik pod određenim pretlakom (vidi sliku 1.). Struja zraka otkida sitne kapi sa uskog otvora (dize) kapilarne cijevi, a ove kapi lebde u obliku magle u struji zraka. Diza i kapilara može biti staklena ili kovinska. Može biti npr. načinjena iz paladija. Raspršivači fo-

tometara napravljeni su često tako, da se dize na njima mogu mijenjati. Količina tekućine, koja se rasprši, ovisna je, pod inace jednakim uvjetima, o otvoru dize. Pored toga igra ulogu još i smjer struje zraka s obzirom na položaj dize. Neki raspršivači napravljeni su tako, da se može izravno duvati zrakom na njihovu dizu, a može se duvati i nešto pokraj dize. U potonjem slučaju se rasprši manja količina tekućine. Količina u jedinici vremena raspršene tekućine ovisna je donekle i o tome kako duboko je uronjen drugi kraj kapilare u tekućinu. Kod izvedbe plamene fotometrije treba unutar jednog niza pokusa uvijek raditi s istom dizom u istom položaju prema struji zraka, te pri istoj visini nivoa tekućine, t. j. otopine, koja se analizira. Ta otopina nalazi se redovito u plosnatoj zdjelici (Petriovoj zdjeli), a što je veći promjer ove zdjelce, to se manje mijenja nivo tekućine za vrijeme raspršivanja.

Struja zraka ulazi iz raspršivača u komoricu za sedimentaciju. To je nešto veća staklena posudica u kojoj će se sedimentirati veće kapi tekućine, pa će samo sitne kapi ostati u obliku fine magle u struji zraka. Struja zraka ulazi sada u posudicu za miješanje plinova, u koju se kroz drugi otvor uvede još i gorivi plin. U toj posudici se plinovi miješaju i zajedno ulaze kroz treći (izlazni) otvor u plamenik. Plamenik je redovito kovinska cijev s kovinskom mrežicom na gornjem otvoru (Meker plamenik), a mora biti tako građen da onemogući prijelaz plamena na plinsku smjesu u posudici za miješanje plinova. U specijalni plamenik fotometra ulazi dakle pod određenim pretlakom plinska smjesa gorivog plina i zraka (kisika), a ta smjesa sadrži u obliku fine magle otopinu koja se analizira.

Cetvrti dio plamenog fotometra je optički i fotoelektrični uređaj za mjerenje intenziteta emitiranog svjetla u plamenu. Ovaj fotometrijski dio aparata ima svoju optiku i elektroniku. Optika služi za izolaciju emitiranih spektralnih linija, te za njihovu projekciju na receptor zračenja. Elektronski dio je mjerni uređaj za određivanje jakosti svjetla plamena.

Najvažniji je dio optičkog uređaja plamenog fotometra optički filter, odnosno monokromator s prizmom ili rešetkom. Veći broj suvremenih konstrukcija plamenih fotometara upotrebljava *interferencione filtre*. Optički filteri su općenito tanke planparalelne ploče, koje selektivno propuštaju određeno, više manje usko, spektralno područje svjetla. Kada se radi o vidljivom području spektra optički filteri mogu biti obojene staklene ploče ili obojene želatinske lamele, te eventualno obojene ploče iz neke umjetne mase. Postoje i tekućinski i plinoviti filteri, t. j. obojene tekućine i plinovi u staklenim posudama s planparalelnim stijenkama. Ovi obojeni filteri izoliraju određena spektralna područja uslijed selektivne apsorpcije svjetla. Stanovito područje propušta filter, a drugi dio spektra se potpuno apsorbira u filteru. Takvim apsorpcionim filterima međutim redovito pripada razmjerno široko spektralno područje propustljivosti (do 50 $m\mu$ spektralne širine i više), a osim toga

njihova maksimalna propustljivost često nije baš velika. Interferencioni filtri naprotiv propuštaju obično selektivno razmjerno usko spektralno područje. Polovična vrijednost spektralne širine interferencionih filtara, t. j. ona spektralna širina, koja odgovara filtru pri padu maksimalne propustljivosti na 50%, iznosi često samo 10 m μ i manje.

Interferencioni filtri imaju dvije, jedna nasuprot druge postavljene planparalelne staklene ploče, čije su unutarnje plohe posrebrne s tankom polupropusnom naslagom kovinskog srebra. Između tih srebrnih »zrcala« nalazi se tanak sloj prozirne tvari s određenim indeksom loma svjetla n . Debljina toga sloja (a) izabere se tako, da odgovara jednadžbi:

$$n \cdot a = \lambda/2 \quad (2)$$

u kojoj je λ dužina vala svjetla za koji filter ima maksimalnu propustljivost. Kada polikromatsko (bijelo) svjetlo pada na takav filter, dolazi do višestruke djelomične refleksije svjetla između navedenih zrcalnih ploha. Uslijed toga dolazi do zaostajanja svjetlosnih valova u fazi, već prema indeksu loma tvari između zrcala i dužini vala svjetla. Kao posljedica ovog zaostajanja u fazi javlja se interferencija svjetla, koja pojača određene dužine vala, dok druge djelomično ili potpuno ugasi. Konačni optički efekt se sastoji u selektivnoj propustljivosti takvog filtra za usko spektralno područje. Debljina tvari između zrcalnih ploha se može u povezanosti s indeksom loma izabrati tako, da se dobije cijeli niz filtara s različitim spektralnim područjima propustljivosti, pri čemu maksimalna propustljivost iznosi redovito 30% do 40%. Takvi interferencioni filtri poznati su od 1939. godine (43,44), a danas se izrađuju specijalni interferencioni filtri za pojedine spektralne emisije linije većeg broja elemenata. Pri radu s plamenim fotometrom s filtrima treba imati zapravo po jedan interferencioni filter za svaki element, koji se želi odrediti tom fotometrijom. Važno je još spomenuti, da se područje spektralne propustljivosti interferencionih filtara mijenja – u skladu s teorijom – kada primarno svjetlo koso pada na filter. Kada paralelni snop svjetla okomito pada na plohu interferencionog filtra, vrijedi gornja jednadžba (2). Kada međutim svjetlo pada na filter pod nekim kutem, mijenja se debljina tvari između zrcala (a u jednadžbi 2) u kojoj dolazi do interferencije svjetla. Uslijed toga se mijenja i spektralno područje propustljivosti. Zbog toga su fotometri s interferencionim filtrima građeni tako, da svjetlo s plamenika uvijek pod jednakim kutem pada na plohu filtra. Interferencioni filtri se često kombiniraju i s odgovarajućim apsorpcionim filtrima, pa se na taj način postizava odgovarajuća selektivnost sprave.

Monokromatorima s optičkim prizmama ili rešetkama pripada znatno veća spektralna selektivnost nego li bilo kojem optičkom filtru. Monokromatorima srednje disperzije može se izolirati svjetlo spektralne širine od 1 m μ ili od nekoliko m μ , a to je sasvim dovoljno za savršeno izoli-

ranje pojedinih spektralnih linija elemenata za svrhu plamene fotometrije. Druga prednost optičkog uređaja s monokromatorom je u tome, što takav aparat pod određenim okolnostima (odgovarajući materijal prizme) može obuhvatiti i veći dio ultraljubičastog spektralnog područja. Time se proširi plamena fotometrija i na one elemente čije se glavne spektralne emisijske linije nalaze u ultraljubičastom području. Fotometri s monokromatorima imaju s druge strane taj nedostatak, da njima pripada manje svjetlosna jačina. Gubici na svjetlu, koje prolazi kroz takav optički sistem, znatno su veći, nego li kod primjene jednostavnih filtara. Zbog toga fotometri s monokromatorom moraju imati takve receptore svjetla i takav elektronički sistem, koji će dati znatno osjetljiviju registraciju u plamenu aparata emitiranog svjetla. Aparati s filtrima mogu biti u tom pogledu jednostavniji.

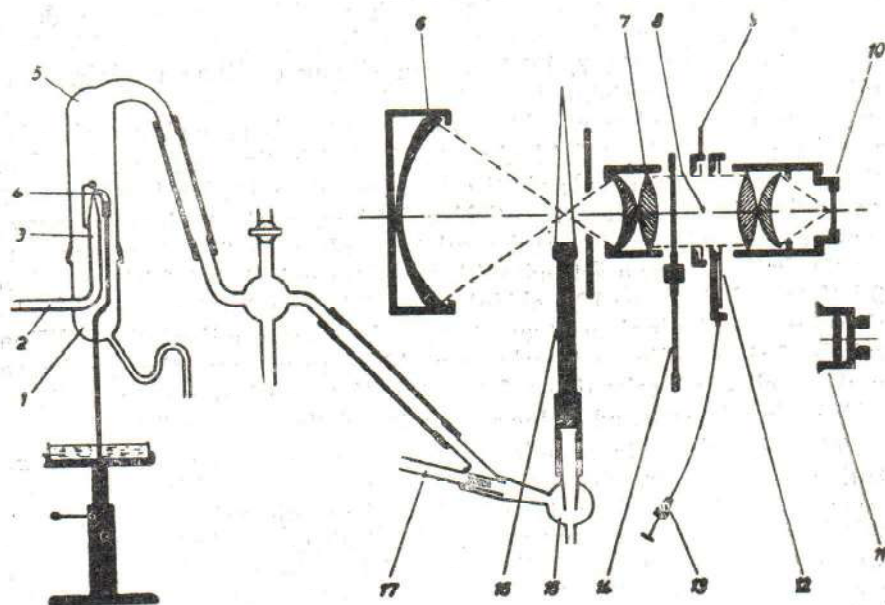
Kao primač (receptor) svjetla fotoelektričnog plamenog fotometra dolaze u obzir: a) fotoclementi (selenovi elementi), b) fotostanice (vakuumske i plinom punjene) i c) fotomultiplikatori. *Fotoclementi* rade bez pomoćnog napona, te se kombiniraju s najosjetljivijim zrcalnim galvanometrima, a takav uređaj mjeri jakost svjetla metodom otklona. U intenzitetnom području, koje pripada emisiji normalnih plamenika fotometara, redovito postoji linearni odnos između intenziteta svjetla i jakosti fotostruje selenovog elementa. Veličina otklona zrcalnog galvanometra može prema tome izravno poslužiti kao relativna mjera za intenzitet u plamenu emitiranog svjetla. Budući da osim toga pri neprevelikoj koncentraciji postoji i linearni odnos između koncentracije u otopini, koja se rasprši u plameniku, i intenziteta emitiranog svjetla, može se izravno postaviti funkcionalni odnos između koncentracije u otopini, koja se analizira, i otklona galvanometra aparata. Ta funkcija će biti često linearna, odnosno neće se baš znatno razlikovati od linearnog odnosa.

Plameni fotometri s optičkim filtrima često imaju kao receptore svjetla fotoclemente, a rade sa zrcalnim galvanometrima po metodi otklona. Spektralna osjetljivost selenovog fotoclementa obuhvaća područje dužine vala od kojih 300 m μ do 700 m μ , što je potpuno dovoljno za normalnu plamenu fotometriju.

Kada se plameni fotometar gradi s monokromatorom, potrebno je uzimati za receptor svjetla *fotostanice* s odgovarajućim elektronskim uređajima za pojačavanje, ili pak *fotomultiplikatore* s njihovom elektroničkom. Takvi fotoelektrični mjerni uređaji se također mogu upotrebljavati uz metode otklona, ali veoma često su građeni za metodu električne kompenzacije. To izričito vrijedi za aparate, koji su konstruirani kao spektralni fotometri za mjerenje apsorpcije svjetla, a uređaj za plamenu fotometriju (raspršivač, plamenik) predstavlja samo aparativnu i funkcionalnu nadopunu tih fotometara. U svakom slučaju plameni fotometri sa fotostanicama i fotomultiplikatorima troše za pogon tih sprava određenu električnu energiju. Fotomultiplikatori rade dapače s razmjerno

visokim istosmjernim naponom (npr. do 2000 volti). Konstrukcija takvih aparata međutim za današnju elektroniku ne predstavlja nikakvu poteškoću, pri čemu se primarna struja uzima iz normalne laboratorijske električne mreže.

Na navedenim principima konstruirani su razni komercionalni plameni fotometri. Ovdje će se prikazati поближе samo jedan takav aparat s optičkim filtrima, a drugi s monokromatorom s prizmom. Slika 1. daje



Sl. 1. Shema plamenog fotometra s optičkim filtrima (C. Zeiss-Jena). 1-5 raspršivač. 15 posudica za miješanje plinova. 16 plamenik, 6 i 7 optički uređaj, 14 revolver s filtrima, 9 irisov zaslon, 12 fotografski zapor s okidačem 13, 10 mjesto za mutno staklo, odnosno za fotoelement 11

shemu plamenog fotometra s optičkim filtrima tvrtke VEB Carl Zeiss Jena. Raspršivač ovog aparata (1 do 5 na slici) načinjen je potpuno iz stakla. Time je onemogućena korozija materijala utjecajem otopine koja se analizira. Kroz cijev 2 ulazi komprimirani zrak u raspršivač, a šiljasti kraj ove cijevi 3 povećava snagu struje znaka, koja prolazi ispred dize za otopinu 4. Ova diza se može izmijeniti, pa prema potrebi ima veći ili manji otvor. Diza postavljena je na kraj kapilare, koja je vertikalno uronjena u Petrijevu zdjelicu s otopinom za analizu. Ova zdjelica nalazi se na malom stoliću, koji se može postaviti uvijek tačno na istu visinu. Time se postizava uvijek ista visina nivoa tekućine. Struja zraka izvučee iz dize i kapilare mlaz otopine, koji pada na staklenu kuglicu iznad dize.

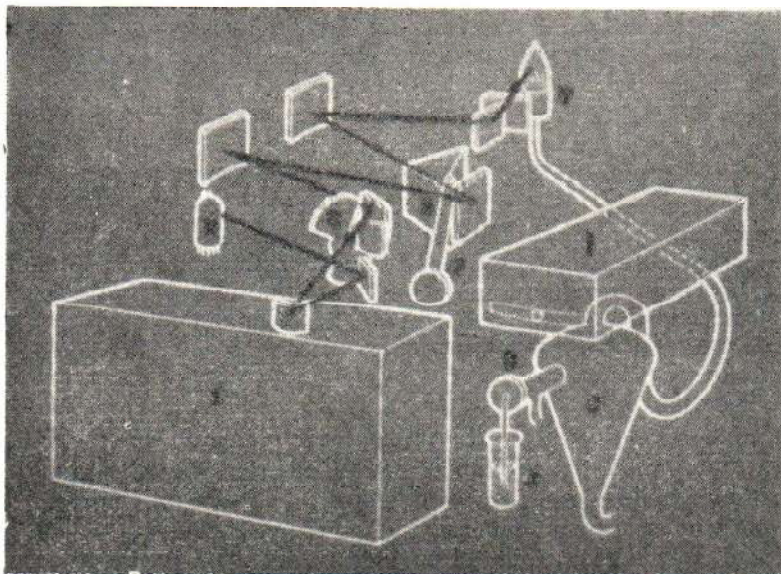
Tako se, a i djelovanjem struje zraka, otopina intenzivno rasprši. U gornjim dijelovima raspršivača 5 kondenziraju se veće kapi otopine i padaju preko stijenske posude na dno, te taj suvišak analize otopine postepeno isteče kroz S-cijev na donjem kraju raspršivača. Na gornju izlaznu cijev raspršivača nadovezana je staklena šuplja kuglica, koja također služi za sedimentaciju većih kapi otopine, a struja zraka s »maglom« otopine ulazi u posudicu za miješanje plinova 15. U istu posudicu ulazi, pod određenim tlakom, kroz cijev 17 gorivi plin. Plinska smjesa konačno ulazi u plamenik 16, čija se visina postavi tako, da se središte plamena nalazi upravo u žarištu konkavnog zrcala 6 i kondenzora optičkog uređaja 7. Djelovanjem cijelog optičkog uređaja stvaraju se na mutnom staklu 10 dvije projekcione slike plamenika, jedna uspravna i jedna okrenuta. Mutno staklo 10 služi za podešavanje plamenika u optimalni položaj kod postavljanja i justiranja fotometra. Ovo staklo se nakon toga nadomjesti s fotoelementom 11. Iza kondenzora 7 postavljen je »revolver« s optičkim filtrima, a okretanjem te sprave može se postaviti na put zraka svjetla s plamena 8, filter onog elementa, koji se upravo želi odrediti. Iza filtra nalazi se još irisov zaslon 9 i (fotografski) zapor 12 s okidačem 13. Irisov zaslon ima važnu funkciju, jer se mijenjanjem otvora toga zaslona može mijenjati i količina svjetla, koja dopiže na fotoelement. Time se u stanovitim granicama može i mijenjati osjetljivost fotometra. Zatvaranjem zapora može se zaštititi fotoelement od stalnog utjecaja svjetla s plamenika.

Fotostruja elementa se mjeri specijalnim zrcalnim galvanometrom, koji ima osjetljivost od 1 do $2 \cdot 10^{-9}$ A po crtici skale. Ta skala galvanometra ima 1000 crta, a time je omogućeno mjerenje velikih otklona svjetlosne markice galvanometra. Višestrukom refleksijom svjetla sa zrcala galvanometra, te specijalnim projekcionim uređajem u aparatu, postizava se, da se utjecajem fotostruje pomiče u vidnom polju skala, dok svjetlosna markica miruje. Time je olakšano u znatnoj mjeri očitavanje većih otklona pomičnog uređaja galvanometra. Paralelno s galvanometrom spojen je na fotoelement još i stalan otpor od nekoliko hiljada oma. To služi za prigušenje titraja galvanometra, a uslijed toga se slika skale pomiče mirno u vidnom polju. Galvanometar ima dvije stepenice osjetljivosti, $10 \times$ i $1 \times$, te ručke za grubo i fino udešavanje nultacke.

Opisanoj shemi Zeissovog plamenog fotometra odgovaraju načelno i drugi komercionalni plameni fotometri s optičkim filtrima. Mogu postojati samo razlike u pojedinostima konstrukcije raspršivača, te u izvedbi i montaži pojedinih dijelova aparata. Tendencija u izradbi plamenih fotometara ide u smjeru, da se cijeli aparat ugradi u zatvorenu limenu kutiju, na kojoj se nalaze precizni manometri za mjerenje tlaka plinova, skala galvanometra i odgovarajuće uklopke, odnosno električni kontakti. Iz same limene kutije izlazi samo kapilara za usisavanje analize otopine i cijevi za priključak na plinske boce. Takvi plameni foto-

metri zauzimaju malo mjesta u laboratoriju, njihovi pojedini dijelovi se ne zaprljaju tako lako i više su otporni prema neopreznom baratanju s njima. Imaju međutim nedostatak da njihova konstrukcija nije pregledna, kontrola funkcije pojedinih dijelova je otežana, i isto vrijedi i za čišćenje i popravak dijelova aparata. Osim gore opisanog aparata mogu se ovdje spomenuti još i plameni fotometri s *filtrima* tvrtke C. Zeiss-Oberkochen, Kipp Delft-Holland, B. Lange Berlin, Beckman Instruments Inc. USA, Coleman Instruments Inc. USA, Evans Electro-selenium Ltd. Engleska, Baird Associates Inc. USA i Etablissement Jouan Francuska.

Kao tipičan plameni fotometar s *monokromatorom* odličnih kvaliteta može se pobliže opisati »Flame Spectrophotometer« SP. 900 tvrtke Unicam-Cambridge. To je fotoelektrički plameni fotometar s disperzionom prizmom i fotomultiplikatorom kao receptorom svjetla. Shemu toga fotometra prikazuje slika 2. U posudici A nalazi se uzorak otopine,



Sl. 2. Shema plamenog fotometra s monokromatorom (Unicam-Cambridge). A otopina za analizu, B raspršivač, C ekspanzionu komora, D plamenik, E-F-G monokromator, H fotomultiplikator, I elektronski uređaj, J galvanometar

koja se analizira. Preko kapilare ulazi ta otopina u raspršivač B, te preko njega sa strujom zraka u ekspanzionu komoru (za sedimentaciju velikih kapi) C. Kapilarna diza raspršivača načinjena je iz legure, koja sadrži 80% platine i 20% iridija. Specijalni Mekerov plamenik D upotrebljava kao gorivi plin acetilen ili propan. Optički dio instrumenta se sastoji od niza površinskih zrcala i disperzione prizme E. To je kvarcova prizma

od 60° s bazom od 70 mm, a može se pomoću odgovarajuće poluge F zajedno s Wadsworthovim zrcalom okretati u svrhu mijenjanja dužine vala emitiranog svjetla, koje se mjeri. Monokromatoru pripada velika rezolucija, a time je omogućeno sigurno spektralno rastavljanje pojedinih spektralnih linija. Svjetlo s monokromatora pada preko rotirajućeg sektora G (za izmjenično osvjetljavanje) na fotomultiplikator H, čija se fotostruja pojačava elektronikom I i dovede zrcalom galvanometru J. Mjeri se po metodi otklona vizuelno ili se fotostruja registrira uz primjenu odgovarajućeg automatskog pisača (recorder). U potonjem slučaju se automatski, pomoću posebnog sinkronog motora, mijenja dužina vala svjetla kod koje pisač registrira otklon galvanometra. Spektralno radno područje aparata obuhvaća raspon od $250 \text{ m}\mu$ do $850 \text{ m}\mu$.

Slično je građen plameni fotometar model 146 tvrtke Perkin-Elmer USA. Beckmanove tvornice stavljaju u promet dodatne uređaje za plamenu fotometriju, koji se kombiniraju s njihovim spektrofotometrima model B (za vidljivo svjetlo) i model DU za vidljivo i ultraljubičasto svjetlo. Tvrtka Hilger u Londonu također proizvodi dodatni uređaj za plamenu fotometriju, koji je konstruiran za njihov spektrofotometar Uvispek.

3. METODIKA PLAMENE FOTOMETRIJE

U pogledu metodike plamene fotometrije potrebno je razlikovati između tehnike izvedbe samih analitičkih određivanja (postupak s aparatima, ispravan način mjerenja i sl.) s jedne strane i principa upotrebene metode analize. Upotrebene analitičke metode se mogu naime osnivati na različitim principima.

3.1. Tehnika rada

Općenito se može kazati, da proizvođači plamenih fotometara daju redovito tačne upute za postupak, rad i čuvanje njihovih aparata. Tih uputa se treba dakako strogo pridržavati. Ovdje će biti možda zgodno dati još neke opće primjedbe za rad s takvim spravama.

Za rad s komprimiranim plinovima treba imati stanovito iskustvo, odnosno potrebno je da analitičaru netko praktički pokaže kako se postupa sa čeličnim bocama i redukcionim uređajima.

Pri montiranju čeličnih boca treba ih postaviti na neki stabilniji stalak, ili se pak pričvrste stabilno uz laboratorijski stol. Ventili tih čeličnih boca i njihov vijak za spuštanje plinova moraju biti dakako u svakom pogledu ispravni. Sprave za redukciju plinskog tlaka postavljaju se na boce tako da ne propuštaju plinove mimo redukcionog ventila, a pomoću manometra na tim spravama kontrolira se tlak plina u boci i ispravan rad redukcionog ventila. Pipac na kraju redukcionog ventila se otvori samo za vrijeme rada, a vijak glavnog ventila na boci treba

uvijek čvrsto zatvoriti kada se prestane s radom. Zgodno je nakon toga još ispustiti plin iz redukcionog ventila, uslijed toga će se kazaljke manometra postaviti na nultačku skale. Dobro je postaviti iznad cijele aparature plamenog fotometra manji ekshaustor (ventilator s ljevkom), koji se stavlja povremeno u pogon. Time se sprječava da gorivi plin ili produkti izgaranja plamena onečiste zrak laboratorija.

Redoslijed puštanja plinova kroz raspršivač i plamenik uvijek je strogo propisan spomenutim uputama. Redovito se postupa tako, da se najprije pušta komprimirani zrak (kisik) kroz aparat pod određenim tlakom. Nakon toga se otvori boca gorivog plina, naravno se redukcionim ventil također na određeni tlak, propušta se plinska smjesa oko 10 sek. kroz plamenik, a tek zatim se plin zapali. Za vrijeme ove pripreme za rad stavlja se u posudicu za raspršavanje otopina, destilirana voda. Kada se prestaje radom najprije se zatvori dovod gorivog plina pipcem na redukcionom ventilu. Time se ugasi plamen. Nakon toga se zatvori glavni ventil na boci s gorivim plinom. Sada se isto tako postupa i s komprimiranim zrakom, a konačno se ispušta plin iz redukcionog ventila za gorivi plin, te zatim iz ventila za zrak. Dobro je još i zatvoriti pipce na tim ventilima.

Preporuča se prije početka izvedbe mjerenja počekati uz gorući plamen 10 do 20 minuta, a u to vrijeme raspršiti vodu u raspršivaču. Time se postizava, da se uspostavlja potpuna termička ravnoteža u aparatu. Raspršivači su često građeni tako, da se suvišak raspršene vode, koji se kondenzira na stijenkama raspršivača, preko odgovarajuće teglice vraća u posudicu za tekućinu koja se rasprši. Takav kružni tok tekućine treba međutim spriječiti kada se rasprši otopina i kada se vrše mjerenja na fotometru.

Plamen fotometra mora uvijek mirno goriti, bez naročitog šuma, a pri raspršivanju destilirane vode smije imati samo slabu emisiju svjetla. Kada plamen pri raspršivanju vode jače svijetli, može se smatrati, da nisu dovoljno čisti upotrebljeni plinovi ili destilirana voda. Plamen se mora ispravno postaviti (centrirati) u optički put fotometra. Zato obično postoje specijalne naprave i daju se odgovarajuće upute. Nultačka fotometra se naravno za vrijeme raspršivanja destilirane vode u plamenu. To je zapravo vrijednost fotostruje za emisiju svjetla pri raspršivanju vode. Kada fotometar radi metodom otklona nultačka se naravno, odgovarajućim vijcima na galvanometru, na određenu konstantnu vrijednost npr. na otklon 10 ili 100 galvanometra. To se dakako radi za onaj filter ili za onu dužinu vala, koji će se upotrebljavati kod izvedbe same analize. Konstantna vrijednost nultačke se odbija od svakog rezultata mjerenja. Time se dobije korigirana vrijednost otklona galvanometra za dotičnu koncentraciju tvari, koja se analizira.

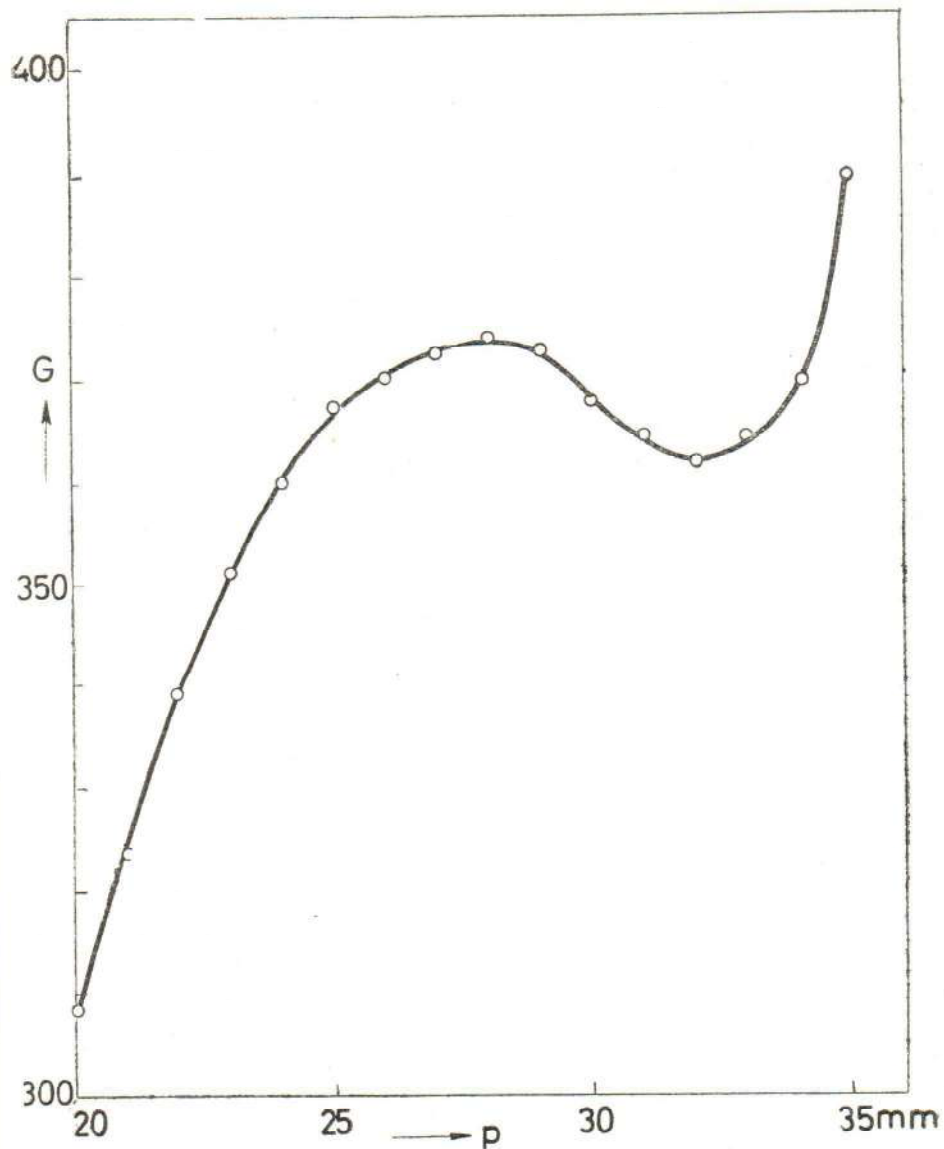
Fotometar mora biti sposoban da radi u većem rasponu različitih koncentracija tvari, koja se analizira. Pored toga se upotrebljavaju filteri s različitim optičkim gustoćama. Zbog toga mora postojati mo-

gućnost da se mijenja osjetljivost fotoelektričnog mjernog uređaja. Takvo mijenjanje osjetljivosti se može postići optičkim ili električnim načinom. Upucski se smanjuje osjetljivost fotometra zatvaranjem zaslona, npr. irisovog zaslona, koji je postavljen na put svjetla ispred receptora zračenja. Električki se mijenja osjetljivost npr. primjenom odgovarajućeg otpornika ili potenciometra. U jednom i drugom slučaju povezane su ove promjene s odgovarajućim skalama (skala zaslona, skala osjetljivosti galvanometra), pa se svaka analiza vrši pri određenoj vrijednosti tih skala. Podaci o tome predstavljaju sastavne dijelove žurnala analize.

Kada se radi pod inače potpuno konstantnim uvjetima, intenzitet emitiranog svjetla ovisan je u stanovitim granicama o odnosu tlakova zraka i gorivog plina. Kada se pri konstantnom tlaku zraka, npr. 0,4 kg/cm², postepeno povećava tlak acetilena, npr. u granicama od 20 do 60 mm stupca vode, dobije se ovaj tok intenziteta emitiranog svjetla. Na početku porasta tlaka acetilena skoro linearno raste i intenzitet emisije. Daljnjim porastom tlaka acetilena intenzitet emisije postizava određeni maksimum (optimalni uvjeti emisije), ostaje na tom maksimumu u određenim granicama tlaka acetilena, daljnjim porastom tlaka nešto pada, pa opet znatnije raste. U navedenom maksimumu, koji odgovara optimalnim uvjetima analize, intenzitet emisije prilično je neovisan o manjim oscilacijama tlaka gorivog plina. Zbog toga se preporuča eksperimentalno odrediti za svaku vrst analize ovo područje optimalnih tlakova gorivog plina. Nakon toga se uvijek radi po tim dobivenim rezultatima, kod optimalnog konstantnog tlaka gorivog plina. Slika 3. prikazuje krivulju s kojom je određen optimalni tlak acetilena za postupak određivanja natrija plamenom fotometrijom. (11).

Kod rada s plamenim fotometrom s monokromatorom potrebno je nakon postavljenja aparata provesti kontrolu skale za dužine vala. Za vrijeme transporta fotometra mogu nastati, mehaničkim utjecajima, manja poremećenja u optici aparata. Uslijed toga mogu vrijednosti na skali za dužine vala pokazati stanovita odstupanja prema stvarnim vrijednostima spektra. Ako su ova odstupanja veća, npr. više $m\mu$, primijetit će se takva pogreška veoma lako, jer će aparat dati veoma slabe rezultate ili nikakve. Ako su međutim odstupanja malena, npr. svega 1 do 2 $m\mu$, manifestirat će se pogreška samo u tome, što će biti znatno smanjenja osjetljivost uređaja. To međutim dakako također nije poželjno, pa se zato kontrolira i justira skala fotometra za dužine vala. Kontrola skale se provada tako, da se rasprše u plamenu neke soli kovina (Na, K, Ca i sl.) s poznatim i dobro mjerljivim emisionim linijama, a intenzitet emisije se odredi za niz dužina vala na skali u blizini dotičnih emisionih linija. Ako se npr. rasprši sol natrija, mjeri se intenzitet emisije posebno za svaki $m\mu$ recimo u granicama između 580 $m\mu$ i 600 $m\mu$, pa se nacrtava emisiona krivulja, čiji maksimum mora odgovarati, već prema disperziji aparata, npr. dužini vala od 589,3

$m\mu \pm 0,5 m\mu$. Postoji li veće odstupanje, mora se uvesti odgovarajuća korekcija, odnosno se justira skala. Takav postupak se provede za nekoliko dužina vala.



Sl. 3. Ovisnost otklona galvanometra G o tlaku acetilena p (u mm vodenog stupca) za konstantan pretlak komprimiranog zraka (0.4 atm) i konstantnu koncentraciju NaCl u otopini (10 mg⁰/o)

3.2. Principi pojedinih postupaka

Pojedini postupci analize s plamenom fotometrijom mogu se bazirati na različitim principima. Praktički se naročito mnogo upotrebljavaju tri principa analitičkih postupaka. To je princip izravne analize sa standardnim uzorcima, te dvije modifikacije principa unutarnjeg standarda.

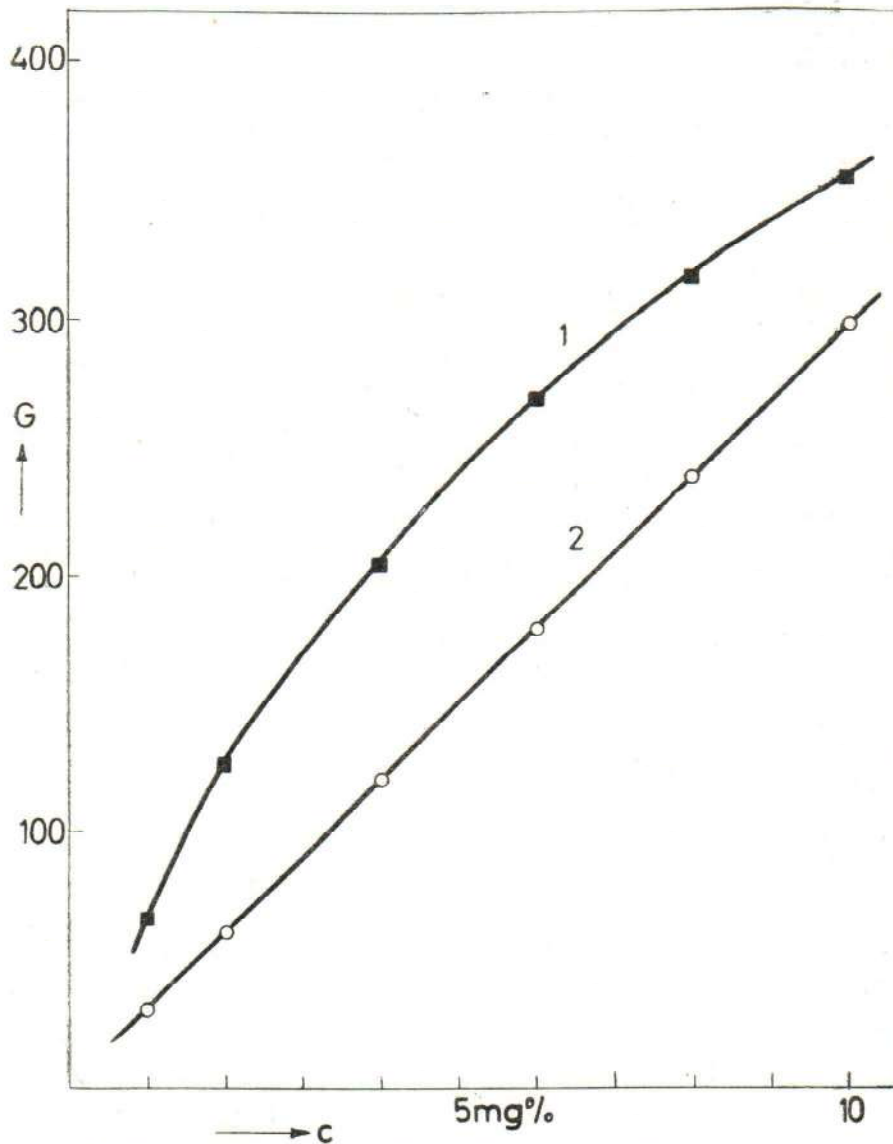
Kod izvedbe *izravnih analiza* se radi pomoću baždarnih krivulja, koje su dobivene mjerenjima s nizom standardnih uzoraka poznate koncentracije. Pod određenim konstantnim uvjetima (konstantni tlakovi plinova, određeni filter i diza) vrše se mjerenja na većem broju standardnih otopina, koje sadržavaju tvar koja se analitički određuje u različitim koncentracijama u određenom koncentracionom rasponu. Taj raspon treba da obuhvati sve praktički moguće koncentracije uzoraka analize. Kada se npr. zna, da je srednja koncentracija natrija u krvnoj plazmi 300 mg/100 ml, a kod praktičke izvedbe analize se plazma razrijedi 1 : 100 s vodom, izaberu se standardne otopine za kontrolu normalnih vrijednosti u plazmi u rasponu od 2 do 4 mg/100 ml. Kada plazma koja se analizira može sadržavati i patološke (veće ili manje) količine natrija, povećava se raspon koncentracije standardnih otopina npr. u granicama od 0,5 do 10 mg natrija u 100 ml otopine. Standardne otopine za izvedbu baždarnih krivulja se dobiju razrjeđenjem ishodnih otopina s većim koncentracijama. Kao takve ishodne otopine za Na, K i Ca preporučuju se napr. ove (7):

1. 0,1% -na otopina Na = 2,5418 g NaCl na 1000 ml
1 ml otopine sadrži 1 mg Na
2. 1% -na otopina Na = 25,418 g NaCl na 1000 ml
1 ml otopine sadrži 10 mg Na
3. 0,1% -na otopina K = 1,9069 g KCl na 1000 ml
4. 1% -na otopina K = 19,069 g KCl na 1000 ml
5. 0,1% -na otopina Ca = 2,4920 g CaCO₃
+ 50 ml 1 n HCl na 1000 ml

Ove navedene ishodne otopine se upotrebljavaju za priređivanje niza standardnih otopina. Takve standardne otopine se po redu rasprše u plameniku fotometra pod konstantnim uvjetima rada, pa se za svaku otopinu odredi odgovarajući otklon galvanometra (G). Pored toga se još i odredi otklon galvanometra pri raspršivanju čiste vode (G₀). Ta »slijepa vrijednost« se odbije od otklona galvanometra za svaku standardnu otopinu, te se na taj način dobije korigirani otklon (G') za svaku standardnu otopinu:

$$G' = G - G_0 \quad (3)$$

Tako korigirane vrijednosti otklona se upotrebljavaju za crtanje baždarnih krivulja (apscisa: koncentracija u $\text{mg}\%$, ordinata: G u vrijednostima skale galvanometra). Dobivene baždarne krivulje predstavljaju



Sl. 4. Baždarna krivulja za određivanje natrija (1) i kalcija (2). Tlak acetilena 47 mm vodenog stupca, pretlak komprimiranog zraka 0,4 atm. c koncentracija Na, odnosno Ca u $\text{mg}\%$, G otklon galvanometra

samo za razmjerno uski koncentracijski raspon pravce. Za veće koncentraciono područje su često krivulje (vidi sliku 4). To je ovisno međutim i o naravi tvari, koja se određuje i o prisutnosti drugih tvari (elektrolita) u otopini.

Kada je izrađena baždarna krivulja, koja načelno vrijedi tako dugo dok se može raditi pod strogo istim uvjetima, vrše se mjerenja pri raspršivanju otopina objekta analize nepoznatih koncentracija. Nakon što je ustanovljena korigirana vrijednost odklona (G') može se grafičkom intrapolacijom na baždarnoj krivulji ustanoviti koncentracija. Kod serijskih određivanja preporuča se ubaciti u niz mjernih otopina objekata analize tu i tamo još i koju standardnu otopinu radi kontrole baždarne krivulje.

Opisana metoda izravnih analiza sasvim strogo vrijedi za čiste otopine i za zaista konstantne uvjete rada. Kada otopine, koje se analiziraju, sadrže pored tvari, koja se određuje, još i druge tvari, takvim sastavljenim otopinama očito pripadaju nešto modificirane baždarne krivulje. Zato pri izvedbi određivanja s plamenim fotometrom baždarnim otopinama treba po mogućnosti dodati sve one tvari, koje se nalaze i u otopinama, koje se analiziraju.

Stanovitu ulogu igraju i fizikalna svojstva otopine, naročito viskozitet, nadalje specifična težina i napetost površine. Ako je otopina viskozija, raspršit će se pod inače jednakim uvjetima manja količina u jedinici vremena, pa će se uslijed toga smanjiti i intenzitet emisije plamena. To u manjoj mjeri vrijedi i za otopine s većom specifičnom težinom. Neki autori su međutim ustanovili, da ovi utjecaji nisu bitni, kada baš nisu velike razlike u navedenim fizikalnim svojstvima. Otopine s niskim vrijednostima napetosti površine lako stvaraju pjenu, a ta pojava može također utjecati na intenzitet emisije u plamenu.

Rezultati mjerenja plamenim fotometrom manje su ovisni o kemijskom sastavu otopina (o prisutnosti nekih tvari, koje smetaju) i o manjim varijacijama pokusnih uvjeta, kada se radi po *metodi unutarnjeg standarda*. Postoje dvije modifikacije ove metode. Prva se sastoji u tome, da se svim standardnim i analiznim otopinama dodaje određena konstantna koncentracija nekog elementa, koji je sličan u kemijskom pogledu onim elementima, koji se određuju plamenim fotometrom. Najviše se kao takav unutarnji standard upotrebljava litij, kao litijev klorid ili litijev karbonat uz dodatak solne kiseline. Preporuča se uzimati konstantno 100 p. p. m. (10 mg na 100 ml) Li, ako treba odrediti natrij ili kalij u koncentracionom rasponu od 0 do 100 p. p. m., odnosno kada treba odrediti kalcij, stroncij, barij, magnezij, krom ili mangan u koncentracionom rasponu od 0 do 1000 p. p. m. Može se pripremiti kao ishodna otopina za litij ova:

6. 0,1%-na otopina Li = 5,324 g Li_2CO_3
 + 50 ml 1 n HCl na 1000 ml
 1 ml otopine sadrži 1 mg Li = 1000 p. p. m.

Ova ishodna otopina se izmiješa sa standardnim i analiznim otopinama u omjeru 1 : 10, pa na taj način svaka otopina sadrži za vrijeme fotometrijskih mjerenja 100 p. p. m. litija.

Mjerenja po metodi unutarnjeg standarda se vrše dvostruko: a) s filtrom elementa koji se određuje i b) s filtrom unutarnjeg standarda (litija). Ako se korigirani otklon galvanometra za filter elementa analize označi sa G'_a , a korigirani otklon za filter unutarnjeg standarda sa G'_u baždarna krivulja će pokazati ovisnost kvocijenta G'_a/G'_u o koncentraciji elementa koji se određuje. Taj kvocijent je manje ovisan o pokusnim uvjetima, nego li samo G'_a , pa time se povećava sigurnost određivanja. Kao unutarnji standardi se mogu upotrebljavati i razni drugi elementi (Co, Mn, Ag, Rb, Tl). Načelno moraju biti taj standard i element koji se analizira u kemijskom pogledu slične tvari.

Druga modifikacija metode unutarnjeg standarda je u tome, da se otopini, koja se analizira, dodaje određena količina one tvari koja se određuje. Najprije se izmjeri korigirani otklon galvanometra za originalnu otopinu analize (eventualno za otopinu koja se razrijedi u određenom omjeru). Neka bude otklon G'_1 za tu otopinu nepoznate koncentracije X. Nakon toga se dodaje originalnoj otopini određena koncentracija U tvari, koja se određuje, pa se za tu povećanu koncentraciju X + U opet odredi korigirani otklon galvanometra G'_2 . Ako koncentracije X i X + U nisu previše različite, t. j. ako su istog reda veličine, općenito će postojati razmjernost između tih koncentracija i njihovih otklona galvanometra:

$$\frac{X + U}{X} = \frac{G'_2}{G'_1} \quad (4)$$

$$\text{ili} \quad X = \frac{G'_1 U}{G'_2 - G'_1} \quad (5)$$

Budući da su poznati korigirani otkloni galvanometra, kao i koncentracija U, može se lako izračunati primjenom jednadžbe (5) nepoznata koncentracija X. Ova metoda daje za dovoljno razrijeđene otopine sigurne rezultate, koji nisu ovisni o prisutnosti tuđih tvari u otopinama, koje se analiziraju.

U pogledu tačnosti određivanja metodama plamene fotometrije treba prije svega spomenuti, da je tačnost veća ako se određivanja vrši na jednostavnim otopinama, npr. s jednom komponentom, a manja je za kompleksno sastavljene otopine s većim brojem komponenata. U prvom slučaju variraju rezultati u prosjeku za $\pm 1\%$, a u drugom slučaju mogu prosječne varijacije rezultata dostići i $\pm 10\%$. Granična najveća tač-

nost s naboljim otopinama kretat će se u granicama od $\pm 0,3\%$ do $\pm 1\%$. Smatra se, da se natrij, kalij i kalcij u biološkim objektima mogu određivati u prosjeku tačno na $\pm 5\%$. Ako serum npr. sadrži 300 mg $\%$ natrija, dobra plameno fotometrijska analiza će dati za taj serum rezultat u granicama od 285 mg $\%$ do 315 mg $\%$. Može se smatrati, da takav rezultat u svakom pogledu odgovara kliničkim potrebama.

4. ODREĐIVANJE NATRIJA, KALIJA I KALCIJA U BIOLOŠKOM MATERIJALU

Kod izvedbe analiza na polju medicinske kemije primjenom plamene fotometrije najviše dolaze u obzir određivanja natrija, kalija i kalcija u krvnom serumu (plazmi) i u mokraći. Zbog toga je potrebno ovdje nešto pobliže kazati o postupku s takvim biološkim materijalom, te o izvedbi samih analiza.

Načelno postoje pet metoda prethodne obradbe biološkog materijala za plamenu fotometriju.

1. Metoda razrjeđivanja
2. Metoda taloženja bjelančevina
3. Razrjeđivanje s organskim otapalima
4. Suha mineralizacija
5. Mokra mineralizacija

Metoda razrjeđivanja je najjednostavnija, te se sastoji u tome, da se serum ili urin razrijedi s destiliranom vodom u određenom omjeru, a tako dobivena otopina se izravno upotrebljava za analizu. Za određivanje natrija i kalija preporuča se razrjeđivanje od 1 : 100 ili 1 : 50 (1 ml seruma ili urina + 99 ml, odnos 49 ml H_2O). Pri određivanju kalcija treba uzeti smanjeni omjer razrjeđivanja, npr. 1 : 50 ili 1 : 20. Tako razrijeđene otopine mogu izravno poslužiti za izvedbu analize metodom standardnih otopina ili jednom metodom unutarnjeg standarda.

Za ilustraciju postupka razrjeđivanja u kombinaciji s metodom unutarnjeg standarda može se navesti jedan primjer određivanja kalcija u serumu (10). Prirede se dvije otopine seruma:

- a) 0,5 ml serum + 24,5 ml H_2O
- b) 0,5 ml serum + 24,25 ml H_2O + 0,25 ml
otopine kalcija koja sadrži 200 p. p. m. Ca

Potonja otopina kalcija se dobije npr. razrjeđivanjem gore navedene ishodne otopine 5), koja sadrži 1000 p. p. m. kalcija, u omjeru 1 : 5.

U smislu gore navedenih jednadžaba (4) i (5) otopini b) dodana je količina kalcija od $U = 2$ p. p. m. Sada se izmjeri za obje otopine otklon galvanometra na plamenom fotometru uz primjenu filtra za kalcij, odnosno za dužinu vala od $422,7 \text{ m}\mu$. Dobiju se npr. ove vrijednosti:

$$\begin{aligned} \text{a) } X & & G'_1 &= 47,5 \\ \text{b) } X + U &= X + 2 & G'_2 &= 87,8 \end{aligned}$$

Po jednadžbi (5) će vrijediti:

$$X = \frac{47,5 \cdot 2}{87,8 - 47,5} = \frac{94,0}{40,3} = 2,33 \text{ p. p. m.}$$

Količina kalcija u originalnom serumu će prema tome biti:

$$50 \cdot 2,33 = 117 \text{ mg Ca/1000 ml, ili } 11,7 \text{ mg Ca/100 ml}$$

Načelno jednako se postupa i s drugim biološkim materijalom. Kada se radi s fotometrom s monokromatorom može se uvesti još jedna korektura, koja se odnosi na spektralnu pozadinu linije u izvoru svjetla (vidi 10).

Plameno fotometrijska metoda s taloženjem bjelančevina se upotrebljava pri analizi objekata s velikim količinama otopljenih bjelančevina (serum, plazma). Postupa se tako, da se najprije nekim poznatim postupkom, npr. s trikloroocetnom kiselinom, talože bjelančevine iz uzorka analize, filtrira se, a s filtratom se postupa po jednoj od gore navedenih metoda plamene fotometrije (13, 31, 37). Pri izvedbi metode razrjeđivanja s organskim otapalima uzorak analize se razrijedi npr. s otopinom koja sadrži: 67,5 vol. % acetona, 10,0 vol. % vode i 22,5 vol. % octene kiseline (30), a dalje se postupa kao s uzorcima, koji su razrjeđeni s vodom. Suha mineralizacija uzoraka za plamenu fotometriju se provodi tako (4), da se materijal oprezno upari u platinskom lončiću, te se ugrije do 400°C , eventualno maksimalno do 550°C . Time se materijal više manje potpuno pretvori u pepeo, koji se otopi u vodi uz ev. dodatak nešto solne kiseline, a dalje se postupa po jednoj od navedenih metoda rada. Mokra mineralizacija uzorka analize se vrši (4) uparivanjem uz dodatak konc. dušične i perklorne kiseline u smjesi u omjeru 5 : 1.

5. SPECIJALNE METODE PLAMENE FOTOMETRIJE

Kao specijalna metoda spektralne analize, uz primjenu plamena kao izvora svjetla, može se spomenuti *plamena spektrografija*. Ta metoda je zapravo jedan oblik normalne emisione spektralne analize, koja na mjesto fotoelektrične fotometrijske mjerne aparature upotrebljava spek-

trograf s fotografskom pločom kao receptorom zračenja. Takva plamena spektrografija može dati veoma dobre rezultate kvalitativnih određivanja. Za kvantitativne analize se danas jedva upotrebljava, jer izradba baždarnih radnih krivulja za fotografsku spektralnu metodu nije tako jednostavna, niti toliko pouzdana.

Druga specijalna metoda plamene fotometrije je *atomska apsorpciona spektroskopija*, koja će izgleda imati veliku budućnost. Ta metoda, koja se osniva na radovima A. Walsh (39, 40), upotrebljava plamen s raspršenim otopinama analize kao objekt u kojem se apsorbira monokromatsko svjetlo nekih specijalnih izvora svjetla (izbojne cijevi s raznim kovinama). Postoji prema tome načelna analogija između obične molekularne apsorpciometrijske spektralne fotometrije plinova, tekućina, otopina i krutih tvari s jedne i atomske apsorpcione spektrofotometrije s druge strane. Samo u prvom slučaju se objekti spektrofotometrije nalaze na sobnoj temperaturi ili nekoj određenoj razmjerno niskoj temperaturi, dok se u drugom slučaju rasprše u plamenu.

Aparatura za atomsku apsorpcionu spektrofotometriju ima ove glavne sastavne dijelove (vidi 12): 1. Izvor svjetla, 2. Plamenik s raspršivačem i 3. Spektrofotometar za mjerenje apsorpcije svjetla u plamenu. Kao izvori svjetla se upotrebljavaju spektralne svjetiljke sa šupljim katodama od raznih kovina ili kovinskih oksida. Ove staklene cijevi ili kuglice punjene su plemenitim plinovima pod niskim tlakom, mogu imati prozorčić od kvarca, te pod visokim naponom daju tinjajuća izbijanja. U području negativnih tinjajućih izbijanja javljaju se uslijed raspršivanja katodnog materijala jake emisione linije dotične kovine, pa ove linije mogu vrlo dobro poslužiti kao izvori monokromatskog svjetla velike jakosti. Za izvedbu atomske apsorpcione spektroskopije potrebno je raspolagati većim brojem takvih izvora svjetla, zapravo svaka kovina, koja se analitički odredi, ima svoju zasebnu svjetiljku s rezonantnom linijom dotične kovine.

Plamenik s raspršivačem građen je po principu plamenika obične plamene fotometrije, ima međutim svoj zaseban oblik, koji uvjetuje odgovarajuću stalnu debljinu sloja plamena. Cijeli taj uređaj se priključuje na spektralni fotometar visoke kakvoće s monokromatorom i fotoelektričnim načinom mjerenja. Tvrtka Hilger and Watts Ltd., London, proizvodi kompletni takav uređaj za atomsku apsorpcionu spektroskopiju.

Postoji bitna razlika između principa obične plamene fotometrije i atomske apsorpcione spektrofotometrije. U prvom slučaju se uspoređuju, kako smo vidjeli, intenziteti u plamenu emitiranog svjetla standardnog uzorka i uzorka analize. U drugom slučaju se naprotiv mjeri intenzitet izvora svjetla, nakon što je to svjetlo prošlo kroz plamen bez raspršivanja uzorka (Jo), odnosno sa raspršivanjem uzorka analize (J). Iz ovih mjerenja se izračuna optička gustoća (ekstinkcija) plamena za dotičnu dužinu vala spektralne linije po jednadžbi:

$$E = \log \frac{J_0}{J} \quad (6)$$

Takva mjerenja se vrše za različite standardne koncentracije, pa se baždarna krivulja dobije grafičkim prikazivanjem tih vrijednosti optičke gustoće plamena o koncentraciji. Postupa se dakle sasvim analogno kao kod normalne apsorpciometrijske spektrofotometrije, samo »kivetu« pri atomskoj apsorpciji predstavlja plamen aparature.

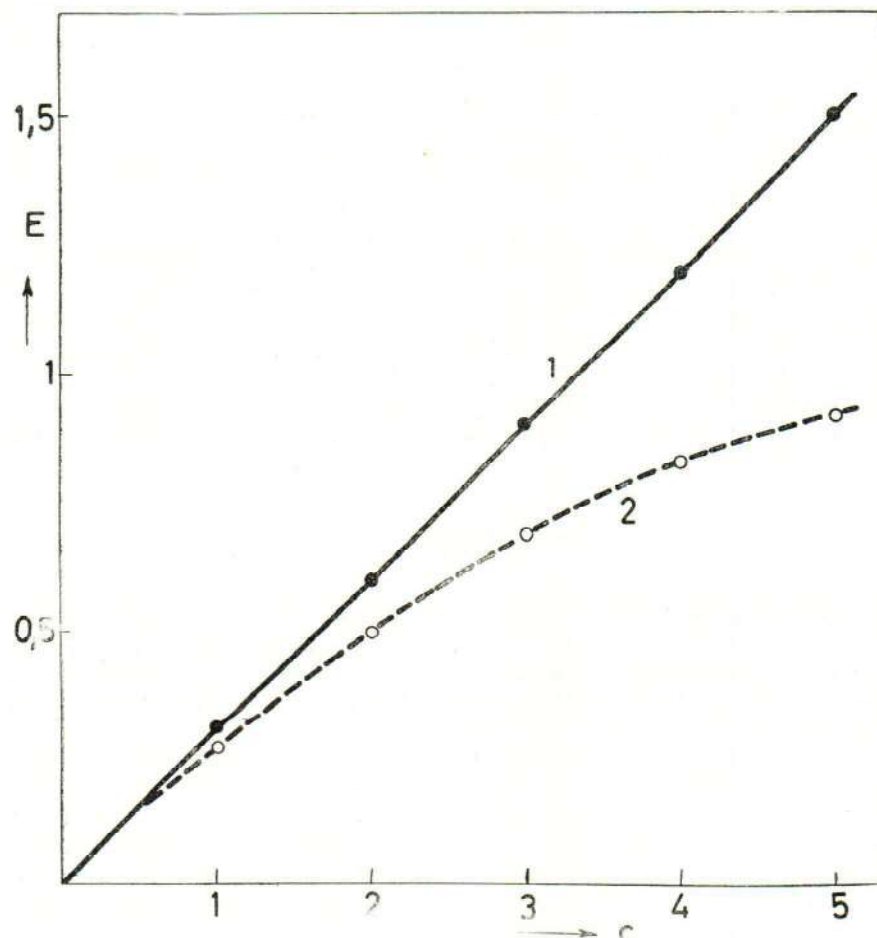
Kada vrijedi Lambert-Beerov zakon, ekstinkcija (E) predstavlja linearnu funkciju koncentracije (c). U atomskoj apsorpciometriji se može međutim realizirati takav slučaj, da je emisiona spektralna linija izvora svjetla spektralno nešto šira od apsorpcione linije tvari u plamenu. U takvom slučaju se jedan dio emitiranog svjetla svjetiljke neće apsorbirati u plamenu niti kod najveće koncentracije uzorka analize. Ako se taj dio svjetla označi sa i_0 , procesu apsorpcije svjetla u plamenu na mjesto jednadžbe (6) bolje će odgovarati ovaj izraz (6):

$$E' = \log \frac{J_0 + i_0}{J + i_0} \quad (7)$$

Po ovoj jednažbi stvarno izmjerena ekstinkcija (E') nije linearna funkcija koncentracije, nego njezin tok predstavlja krivulju, koja to više odstupa od pravčastog toka, što je veća vrijednost i_0 . Krivulja 2 na slici 5. prikazuje takvu krivulju za $J_0 = 100$ i $i_0 = 10$, dok pravac 1 na istoj slici odgovara jednadžbi (6).

Metode atomske apsorpcione spektrofotometrije izrađene su s namjerom, da se odstrane neki nedostaci konvencionalne plamene fotometrije. U tom pogledu postignuto je uglavnom ovo. Rezultati atomske apsorpciometrije nisu ovisni u prisutnosti tuđih tvari (drugih atoma), ne postoji t. zv. interelementarna interferencija, jer su apsorpcione linije atoma veoma uske. Osim toga nisu mjerodavne za metodu procesi ekscitacije, na koje mogu bitno utjecati tuđe tvari. Nadalje nije potrebno pri izvedbi atomske apsorpciometrije uvijek raditi s nizom standardnih uzoraka, odnosno s unutarnjim standardima. Drugim riječima baždarna krivulja, koja je izmjerena, više manje stalno vrijedi, a može se raditi i bez standardne baždarne krivulje, računajući na temelju Lambert-Beerovog zakona upotrebom poznate vrijednosti ekstinkcionog koeficijenta. Ta vrijednost se mora dakako jedamput za uvijek ustanoviti za strogo konstantne pokusne uvjete.

Daljnja prednost atomske apsorpciometrije je, da ta metoda radi kod razmjerno niske temperature. Nije potrebna termička ekscitacija dotičnih atoma, nego povišena temperatura plamena služi samo za isparivanje dotičnih tvari, te za disocijaciju molekula analiznog uzorka u atome. Sam proces apsorpcije malo je ovisan o temperaturi (to je bitna razlika prema termičkoj ekscitaciji i emisiji), pa uslijed toga ne smetaju toliko



Sl. 5. Ovisnost ekstinkcije E (pravac 1) i korigirane ekstinkcije E' (krivulja 2) o koncentraciji c

manje varijacije u temperaturi. Konačno su rezultati manje ovisni o jakosti spektralne pozadine (background), koja se manifestira kao slabi kontinuirani spektar. Time se postizava veća specifičnost analiznog postupka.

U tablici 4. navedene su granične koncentracije nekih elemenata u p. p. m. u kojima se mogu upravo još određivati metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije.

Tablica 4.

Granične koncentracije određivanja elemenata metodom atomske apsorpcije u plamenu (4)

Element	Rezonantna linija m μ	Granična koncentracija p. p. m.	Oscilatorska jakost (f-vrijednosti)
Kadmij	326,1	0,1	
Cezij	852,1	10	0,66
Krom	425,4	40	0,084
Bakar	324,7	1	0,62
Zlato	267,6	2	
Željezo	372,0	20	0,013
Litij	670,8	—	0,50
Magnezij	285,2	0,1	1,74
Nikalj	341,5	20	0,02
Kalij	766,5	0,5	0,64
Rubidij	780,0	2	
Srebro	538,3	2	
Natrij	589,6	0,1	0,70
Talij	—	10	
Cinak	213,9	0,2	

6. NEŠTO IZ TEORIJE PLAMENE FOTOMETRIJE

Teorija plamene fotometrije je zapravo kvantna teorija emisije i apsorpcije svjetla u atomima elemenata u plinovitom stanju. Ta je teorija razrađena i potvrđena u mnogobrojnim pojedinostima, a ovdje će se navesti ukratko samo ono, što je potrebno analitičaru za bolje razumijevanje prikazanih postupaka određivanja elemenata.

Procesu apsorpcije i emisije svjetla u izoliranim atomima (plinovima pod slabim pritiskom) odgovara po kvantnoj teoriji promjena energije atoma (ΔE) po jednadžbi:

$$\Delta E = E_j - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (8)$$

E_0 i E_j označuju u ovom izrazu elektronsku energiju atoma u normalnom (temeljnem) i u ekscitiranom stanju (j), h je Planckova univerzalna konstanta, ν i λ je frekvencija i dužina vala apsorbiranog, odnosno emitiranog svjetla, a c je brzina svjetla. Apsorpcijom svjetla atom prelazi u ekscitirano stanje veće energije (E_j), a emisijom svjetla frekvencije ν , odnosno dužine vala λ , atom se vraća u normalno stanje s manjom energijom. Ekscitaciona energija (ΔE) odgovara energiji kvanta svjetla.

Osim apsorpcijom svjetla atom može prijeći u ekscitirano stanje i drugim procesima primanja energije. Takav je proces termička ekscitacija, kada kod povišene temperature energiju ekscitacije pokriva kine-

tička energija atoma (molekula, iona). Atom se ekscitira sudarima s drugim atomima razmjerno velike kinetičke energije. Takvi procesi se zbivaju i u plamenu, a termička ekscitacija dakako je to izrazitija, što je viša temperatura.

Broj atoma u plinskom plamenu veoma je velik. 1 cm³ nekog atomarnog (idealnog) plina sadrži kod temperature od 20° C i plinskog tlaka od 1 atm. 2,51·10¹⁹ atoma toga plina. Broj tih atoma se smanjuje uslijed termičkog rastezanja plina na 3,69·10¹⁸ kod temperature od 2000° K. Samo jedan dio tih atoma se termički ekscitira, a veći dio se nalazi i kod povišene temperature u normalnom stanju. Vrijeme trajanja ekscitacije leži u granicama od 10⁻⁷ do 10⁻⁹ sek., već prema naravi dotično atoma (u prosjeku se uzima 10⁻⁸ sek.). Nakon toga vremena atom se vraća u normalno stanje emisijom svjetla (možda i putem nekih drugih konkurentnih procesa). U stacionarnom stanju, kada u jedinice vremena jednaki broj atoma prelazi u ekscitirano stanje iz normalnog, kao i iz ekscitiranog u normalno stanje, postoji određeni odnos između broja ekscitiranih atoma N_j i broja normalnih atoma N₀ po jednadžbi:

$$N_j = N_0 \frac{P_j}{P_0} \exp. - \left(\frac{\Delta E}{kT} \right) \quad (9)$$

ΔE je u ovom izrazu ekscitaciona energija po jednadžbi (8), k je Boltzmannova konstanta, T je apsolutna temperatura, a P_j i P_0 su statističke težine ekscitiranog i temeljnog stanja. Statistička težina odgovara broju fizikalnih mogućnosti realizacije dotičnog kvantnog stanja. Prema tome brojčana vrijednost statističke težine u pravilu je 1 ili drugi maleni cijeli broj.

Iz jednadžbe (9) se jasno vidi, da je broj ekscitiranih atoma to veći što je viša temperatura i što je manja ekscitaciona energija. Budući da je ta energija ovisna o naravi dotičnog elementa i o liniji na koju se odnosi jednadžba (9), postoje stanovite razlike u vrijednostima N_j pri

Tablica 5.

Odnos broja ekscitiranih atoma (N_j) prema broju atoma u normalnom stanju (N₀) za različite temperature (6)

Rezonantne linije m μ	N _j /N ₀			
	T = 2000° K	T = 3000° K	T = 4000° K	T = 5000° K
Cs 852,1	4.44 × 10 ⁻⁴	7.24 × 10 ⁻³	2.98 × 10 ⁻²	6.82 × 10 ⁻²
Na 589,0	9.86 × 10 ⁻⁶	5.88 × 10 ⁻⁴	4.44 × 10 ⁻³	1.51 × 10 ⁻²
Ca 422,7	1.21 × 10 ⁻⁷	3.69 × 10 ⁻⁵	6.03 × 10 ⁻⁴	3.33 × 10 ⁻³
Zn 213,9	7.29 × 10 ⁻¹⁵	5.58 × 10 ⁻¹⁰	1.48 × 10 ⁻⁷	4.32 × 10 ⁻⁶

ekscitaciji različitih elemenata u plamenu. Tablica 5. daje brojčane vrijednosti za odnos N_j/N_0 za nekoliko elemenata i za različite temperature plamena.

Pored izravne ekscitacije toplinom, mogu se zbivati u plamenu još i drugi procesi, koji utječu na jakost emitiranog svjetla. To su prije svega *vlastita apsorpcija* spektralnih linija i *ionizacija* atoma. Vlastita apsorpcija linija se sastoji u tome, da atomi dotičnog elementa, koji se ispituje, nalaze u površinskim dijelovima plamena na nižoj temperaturi, nego li u unutrašnjosti plamena, pa ovi termički neekscitirani atomi u površinskim slojevima mogu djelomično apsorbirati svjetlo, koje se emitira u unutrašnjosti plamena. Ova apsorpcija svjetla u vlastitim atomima istog elementa može znatno smanjiti jakost emitiranog svjetla, a time i fotometrijski efekt. U plamenoj fotometriji treba tako izabrati pokusne uvjete, da bude ta vlastita apsorpcija što manja.

Termička ionizacija atoma se sastoji u odcijepljenju jednog elektrona, uslijed čega se stvara pozitivno nabijeni ion elementa. Takvim ionima pripada drugi emisioni spektar, nego li atomima, a takvi ionski spektar može smetati pri fotometriranju emisionih linija atoma. Ionizacija će biti to izrazitija što je viša temperatura i što je manja koncentracija dotičnih atoma, a na tu koncentraciju mogu utjecati i tuđi elektroliti u plamenu. U plamenu, u koji se unosa neka so, postoje zapravo dvije termičke ravnoteže, naime disocijaciona i ionizaciona. Ove ravnoteže se mogu npr. za NaCl u plamenu karakterizirati ovim jednadžbama:

disocijacija

$$\frac{p_{\text{Na}} \cdot p_{\text{Cl}}}{p_{\text{NaCl}}} = K_d \quad (10)$$

ionizacija

$$\frac{p_{\text{Na}^+} \cdot p_{e^-}}{p_{\text{Na}}} = K_i \quad (11)$$

p označuje u ovim izrazima parcijalne tlakove molekula, atoma, iona i elektrona (e^-), a K_d i K_i su disocijacioni i ionizacione konstante. Promjenom položaja tih ravnoteža, npr. dodavanjem tuđih elektrolita, može se mijenjati parcijalni tlak atoma u plamenu, a time i jakost emitiranog svjetla. Općenito se smatra, da takvi utjecaji više dolaze do izražaja kod ionizacije, nego li kod disocijacije. Kada se npr. određuje plamenom fotometrijom kalij (KCl) a dodaje se natrij (NaCl) u omjeru $K : Na = 1 : 10$ povećavat će se intenzitet emisije linije kalija tim dodatkom pri niskoj koncentraciji kalija (1 mg K/l) i razmjerno niskoj temperaturi plamena za kojih 30%. Kada se međutim povisuje dodatak NaCl npr. do omjera $K : Na = 1 : 100$, a istovremeno se radi i s povišenom temperaturom (vodik + kisik) može se intenzitet emisije kalijeve linije

povisiti i za nekoliko stotina $\%$. Smatra se da dodatak NaCl spriječava ionizaciju atoma kalija, a time povećava intenzitet emisije atomske linije (5).

Kako je već spomenuto, mogu se analize s plamenom fotometrijom izvesti i tako, da se otopinama za analizu dodaju određene količine lako hlapivih organskih tekućina (raznih alkohola, acetona, tetraklorugljika i sl.). Za isparivanje takvih tekućina potrebna je manja toplina, nego li za isparivanje vode, a pored toga ove tekućine izgaraju u plamenu egzotermno, pa time mogu znatno povisiti temperaturu plamena. Budući da između broja ekscitiranih atoma (N_j) i apsolutne temperature ekscitacije (temperature plamena) postoji funkcionalni odnos po jednadžbi (9), a pored toga postoji još i proporcionalitet između broja ekscitiranih atoma i intenziteta emitiranog svjetla, jasno je, da se fotometrijskim mjerenjima intenziteta svjetla plamena u odsutnosti i prisutnosti organskog otapala mogu odrediti odnosne temperature plamena. Jednadžba (9) imat će načelno isti oblik za plamenu fotometriju s vodenim otopinama, kao i za rad u prisutnosti organskih tekućina. Samo broj ekscitiranih atoma i temperatura plamena će imati druge brojeve vrijednosti. Ako se broj ekscitiranih atoma za vodene otopine označi sa N_j^v , a za prisutnost organskih tekućina sa N_j^o , nadalje odgovarajuće temperature sa T_v i T_o , imat će jednadžba (9) za inače jednake pokusne uvjete ove oblike:

$$N_j^v = N_o \frac{P_i}{P_o} \exp. - \left(\frac{\Delta E}{kT_v} \right) \quad (9a)$$

$$N_j^o = N_o \frac{P_j}{P_o} \exp. - \left(\frac{\Delta E}{kT_o} \right) \quad (9b)$$

Ako se ove jednadžbe međusobno podijele, a odnosni intenziteti emitiranog svjetla označe sa J_v i J_o , dobije se jednadžba:

$$\log \frac{J_o}{J_v} = \log \frac{N_j^o}{N_j^v} = \frac{-\Delta E}{2,303 k} \frac{T_v - T_o}{T_v T_o} \quad (10)$$

Kada je poznata temperatura plamena pri raspršivanju vodenih otopina (vidi tablicu 3) mogu se izračunati iz podataka fotometrijskih mjerenja primjenom jednadžbe (10), povišene temperature dotičnih plamena u prisutnosti organskih tekućina. Tako je ustanovljeno (4), da acetilenski plamen s kisikom može pod stanovitim uvjetima u prisutnosti organskih tekućina postići i temperaturu preko 3900°K .

Ako bi mogli smatrati, da je energija pojedinih kvantnih stanja strogo određena, morali bi očekivati neizmerno uske spektralne linije. Međutim po Heisenbergovoj relaciji neodređenosti energije kvantnog stanja strogo određena samo u slučajevima kada je vrijeme trajanja

kvantnog stanja neizmjereno veliko. Takav slučaj je približno realiziran samo za normalno (temeljno) stanje atoma, a nikako za ekscitirano stanje. Iz vremena trajanja ekscitiranog stanja ($\sim 10^{-8}$ sek.) može se izračunati, da će iz navedenih razloga »prirodna« širina spektralnih linija imati vrijednost po redu veličine od nekoliko stotiljaditinki $m\mu$. Postoje međutim razne smetnje, koje povećavaju širinu spektralnih linija, a koje ne mogu biti potpuno odstranjene. Zbog toga se ne mogu izmjeriti prirodne širine linije. Od tih smetnji procesa emisije su najvažniji utjecaji električnih i magnetskih polja susjednih atoma, koji su međutim ovisni o plinskom tlaku i mogu se skoro potpuno odstraniti sniženjem tlaka, te nadalje Dopplerov pojav. Taj pojav povezan je s termičkim gibanjem atoma, pa se atomi za vrijeme emisije svjetla približavaju, odnosno udaljuju od posmatrača, a time se dužina vala emitirane svjetla smanjuje, odnosno povećava. Budući da svjetlo emitira istovremeno veći broj atoma u različitim stanjima gibanja, Dopplerov pojav se manifestira u proširenju spektralnih linija. Uslijed ovog utjecaja spektralne linije pod inače idealnim uvjetima rada mogu imati širinu od nekoliko hiljaditinki $m\mu$. Kod praktički izvedenih pokusa međutim ta širina može biti još i veća. Kao širina (Dopplerova širina) spektralne linije se definira spektralna širina u $m\mu$ ili A^0 , koja odgovara sredini intenzitetne krivulje linije, t. j. mjestu na krivulji na kojem je intenzitet pao na polovinu svoje maksimalne vrijednosti. Klasična teorija daje za takvu širinu linije ($D\lambda$) jednadžbu:

$$D\lambda = \sqrt{\frac{T}{m}} \cdot \frac{\lambda_0}{c} \sqrt{2k \ln 2} \quad (11)$$

U ovom izrazu T je apsolutna temperatura pri emisiji svjetla, m je masa atoma, λ_0 je dužina vala u maksimumu intenziteta linije, c je brzina svjetla, a k je Boltzmannova konstanta. Jednadžba (11) važna je za plamenu fotometriju, jer pokazuje, da je Dopplerova širina linije samo malo ovisna o temperaturi.

Linijaska apsorpcija svjetla u razrijeđenim plinovima (u izoliranim atomima elemenata) redovito se ravna po Lambertovom zakonu ovog oblika:

$$J = J_0 \exp. - (K l) \quad (12)$$

J_0 i J je u ovom izrazu intenzitet svjetla prije i poslije procesa apsorpcije, K je apsorpcioni koeficijent za dotičnu dužinu vala, a l je debljina sloja plina koji apsorpira svjetlo. Po klasičnoj disperzionoj teoriji apsorpcioni koeficijent u maksimumu intenziteta spektralne linije je definiran izrazom:

$$K_{\max} = \frac{2 \lambda^2}{D \lambda} \left(\frac{\ln 2}{\pi} \right)^{1/2} \frac{\pi e^2}{m c^2} N f \quad (13)$$

$D\lambda$ označuje u ovom izrazu Dopplerovu širinu spektralne linije, e naboj i m masu elektrona, c brzinu svjetla, N broj atoma u jednom kubičnom centimetru, koji su sposobni da apsorbiraju svjetlo dotične frekvencije, a f je oscilatorska jakost atoma. Ta fizikalna veličina definirana je kao prosječan broj disperzionih elektrona po atomu. To je konstantan brojčani faktor, koji je karakterističan za dotični kvantni prijelaz i korigira naboj i masu elektrona s obzirom na taj prijelaz. Fizikalno značenje oscilatorske jakosti u tome, da se kvantni prijelazi pojedinih elektrona ne zbivaju posve neovisno, nego na takve prijelaze utječu i drugi elektroni tog atoma. U tablici 4. navedene su oscilatorske jakosti rezonantnih spektralnih linija nekih elemenata.

Jednadžba (13) važna je za atomsku apsorpciometriju, pri čemu je značajno da ona sadrži osim $D\lambda$ samo konstantne o temperaturi neovisne veličine. Budući da se i $D\lambda$ po jednadžbi (11) samo neznatno mijenja s temperaturom, može se zaključiti, da rezultati atomske apsorpciometrije neće biti bitno ovisni o varijacijama temperature plamena.

LITERATURA

A) Knjige, zbirni članci, katalozi

1. *Mavrodineanu, R., H. Boiteux: L'Analyse Spectrale Quantitative par la Flamme, Masson et Cie. Paris 1954.*
 2. *Burriel-Marti, F., J. Ramirez-Munoz: Flame photometry, Elsevier Publishing Co., London 1957.*
 3. *Herrmann, R., C. Th. J. Alkemade: Flammenphotometric, Springer Verlag, Berlin 1960.*
 4. *Dean, I. A.: Flame Photometry, Mc Graw-Hill Co., New-York 1960.*
 5. *Schuhknecht, W.: Die Flammenspektralanalyse, F. Enke Verlag, Stuttgart 1961.*
 6. *Elwell, W. T., J. A. F. Gidley: Atomic-Absorption Spectrophotometry, Pergamon Press Ltd., Oxford 1961.*
 7. *Gabsch, H. Ch.: Flammenphotometrie u priručniku: M. Büchner, Moderne chemische Methoden in der Klinik, str. 631, VEB Georg Thieme Verlag, Leipzig 1961.*
 8. *Lange, B.: Kolorimetrische Analyse, str. 60, Verlag Chemie, Weinheim 1956.*
 9. *Mavrodineanu, R.: Bibliography on Analytical Flame Spectroscopy, Appl. Spec-
10. Unicam Instruments Ltd. London, Method Sheet*
- No. 900/1, Determination of Calcium in Biological Materials, April 1959.
No. 900/2, Determination of Sodium and Potassium in Serum and Urine, Sep-
tember 1959.
No. 900/4, Determination of Strontium in Biological Materials, January 1960.
No. 900/5, Determination of Magnesium in Biological Materials, May 1962.
No. 900/6, Determination of Calcium in Biological Materials, May 1962.
Sp. 900, Flame Spectrophotometer, katalog 1960.
11. *Carl Zeiss, Jena, Flammenphotometer, Modell III, katalog br. 1081/1-4, Uputa
za rukovanje.*

12. *Hilger and Watts Ltd.* London, Atomic-Absorption Spectroscopy, katalog br. CH 407.

B) *Originalne radnje* (zbog velikog broja publikacija daje se samo manji izbor radova)

13. *Alkemade, C. T. J., J. Smit, J. C. M. Uerschure*: A Further Contribution to the Development of the Flame Photometric Determination of Sodium and Potassium in Blood Serum, *Biochim. Biophys. Acta* 8 (1952) 562.

14. *Allan, J. E.*: Atomic-absorption Spectrophotometry with Special Reference to Determination of Magnesium, *Analyst* 83 (1958) 466.

15. *Amoore, J. E., D. S. Parsons, W. C. Werkheiser*: A Lithium Internal Standard Photometer, *Biochem. J.* 69 (1958) 236.

16. *Baker, R. W. R.*: Determination of Calcium in Serum, *Biochem. J.* 59 (1955) 566.

17. *Chen, P. S., T. Y. Toribara*: Some Errors in the Determination of Calcium in aged Blood Serum, *Anal. Chem.* 26 (1954) 1967.

18. *Davis, S.*: A Flame Photometric Method for the Determination of Plasma Magnesium after Hydroquinoline Precipitation, *J. Biol. Chem.* 216 (1955) 643.

19. *David, D. J.*: Determination of Zinc and Other Elements in Plants by Atomic-absorption Spectroscopy, *Analyst* 83 (1958) 655.

20. *Dierkesmann, A., J. Belke*: Eine flammenphotometrische Methode zur Bestimmung von Na, K und Ca in biol. Flüssigkeiten, *Arch. exper. Path. Pharmacol.* 205 (1948) 629.

21. *Dryer, R. L.*: Semi-micro Flame Photometry of Serum Sodium and Potassium, *Clin. Chem.* 2 (1956) 112.

22. *Gilbert, P. T.*: Flame Photometry-New Precision in Elementary Analysis in Industrial Laboratories, *Ind. Labs.* 1952, 41.

23. *Gilbert, P. Jr., R. C. Hawes, A. O. Beckman*: Beckman Flame Spectrophotometer, *Analyt. Chemistry* 22 (1950) 772.

24. *Harrison, G. E.*: Estimation of Strontium in Biological Materials, *Nature* 182 (1958) 792.

25. *Herrmann, R.*: Flammenphotometrische Bestimmung von Kupfer im Serum, *Z. Exper. Med.* 126 (1955) 334.

26. *Herrmann, R.*: Flammenphotometrische Bestimmung von Magnesium im Serum, *Z. exper. Med.* 126 (1955) 371.

27. *Herrmann, R.*: Photometrische Analyse von Natrium, Kalium und Kalzium im Serum *Z. Exper. Med.* 118 (1952) 187.

28. *Herrmann, R., R. Baumann*: Mikromethode zur flammenphotometrische Bestimmung von Natrium, Kalium und Kalzium, *Z. exper. Med.* 119 (1952) 487.

29. *Hilgers, A.*: Genaue flammenphotometrische Bestimmung von Natrium, Kalium und Kalzium im Urin, *Z. physiol. Chem.* 304 (1956) 193.

30. *Hummer, F. L., J. R. Walsh*: Flame Photometric Determination of Serum Calcium, *J. Lab. Clin. Med.* 48 (1956) 127.

31. *Klyne, W.*: Use of the Flame Photometer in a Clinical Laboratory, *Spectrochim. Acta* 4 (1950) 64.

32. *Lockyer, R., G. E. Hames*: The Quantitative Determination of Some Noble Metals by Atomic-absorption Spectroscopy, *Analyst* 84 (1959) 385.

33. *Milani, C.*: Direct Determination of Sodium, Potassium and Calcium by Flame Spectrophotometry in Biological Materials, *Biochem. appl.* 4 (1957) 401.

34. *Robinson, A. M., T. C. J. Ovenston*: Lithium in Magnesium-Lithium Alloys by Internal Standard Flame Photometry, *Analyst* 79 (1954) 47.

35. *Ryssing, E.*: Influence of Surface Tension in Serum and Urine on Flame Photometric Analysis, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 5 (1953) 321.

36. *Schönberg, W. D.*: Zur Technik der Flammenphotometrie in der Klinik, *Arch. exper. Path. Pharmacol.* 214 (1952) 358.

37. *Smit, J. A., C. T. J. Alkemade, J. C. M. Uerschure*: Development of Flame Photometric Determination of Sodium and Potassium in Blood, *Biochim. et Biophys. Acta*, 6 (1951) 508.

38. *Wallace, W. M., M. Holliday, M. Cushman, J. R. Elkington*: The Application of Internal Standard Flame Photometer to the Analysis of Biological Materials, *J. Lab. Clin. Med.* 37 (1951) 621.
39. *Walsh, A.*: The Application of Atomic Absorption Spectra to Chemical Analysis, *Spectrochim. Acta* 7 (1955) 108.
40. *Walsh, A., B. J. Russell, J. P. Shelton*: An Atomic Absorption Spectrophotometer and Its Application to the Analysis Solutions, *Spectrochim. Acta* 8 (1957) 317.
41. *Woldring, M. G.*: Determination by Flame Photometry of Sodium and Potassium in Some Biological Fluids, *Anal. Chim. Acta* 8 (1953) 150.
42. *Zak, B., R. E. Mosher, A. J. Boyle*: A Review of Flame Analysis in the Clinical Laboratory, *Am. J. Clin. Pathol.* 23 (1953) 60.
43. *Geffcken, W.*: *Zeitschr. angew. Physik* 6 (1954) 249.
44. *Geffcken, W.*: *Angew. Chem. A* 60 (1948) 1.

Zusammenfassung

DIE FLAMMENPHOTOMETRIE IM DIENSTE DER MEDIZINISCHEN CHEMIE

Es wurde die apparative und methodische Seite der Flammenphotometrie, die heute vielfach zur quantitativen Bestimmung der Alkali- und Erdalkalimetalle, sowie der anderen Leichtmetalle, Verwendung findet, auf Grund der Fachliteratur, besonders in Hinblick auf die Anwendung in der medizinischen Chemie, zusammenfassend dargestellt. Zuerst wird das Prinzip der Methode besprochen, es folgt die Beschreibung der Apparate, die heute für solche Bestimmungen gebräuchlich sind, dann werden Anweisungen für Durchführung der Bestimmungen nach den einzelnen Methoden der Flammenphotometrie gegeben und schliesslich werden auch die Fehlergrenzen der Flammenphotometrie diskutiert. Als besondere Form der Flammenphotometrie wird die atomare Absorptions-Spektrophotometrie kurz besprochen. Die theoretischen Grundlagen der Methode werden gleichfalls kurz dargestellt und die wichtigste Literatur angeführt.

*Institut für gerichtliche Medizin,
Medizinische Fakultät, Zagreb*

Eingegangen am 10. VIII. 1963.