

HATTINGH, CORNELIUS JOHANNES

**MEMBRAANSKEIDINGS MET BEHULP VAN DIALISE IN
VLOEISISTEME**

MSc

UP

1994

**MEMBRAANSKEIDINGS MET
BEHULP VAN DIALISE
IN
VLOEISISTEME**

C J HATTINGH

**MEMBRAANSKEIDINGS MET
BEHULP VAN DIALISE
IN
VLOEISISTEME**

deur

Cornelius Johannes Hattingh

Voorgelê ter gedeeltelike vervulling van 'n deel van die vereistes vir die
graad

MAGISTER SCIENTIAE

in die fakulteit Natuurwetenskappe,
Universiteit van Pretoria.

Pretoria.
Maart 1994

MEMBRAANSKEIDINGS MET BEHULP VAN DIALISE IN VLOEISISTEME

deur

Cornelius Johannes Hattingh

Voorgelê ter gedeeltelike vervulling van 'n deel van die vereistes vir die
graad

MAGISTER SCIENTIAE

in die fakulteit Natuurwetenskappe,
Universiteit van Pretoria.

Pretoria.
Maart 1994

Membraanskeidings met behulp van dialise in vloeisisteme

deur

Cornelius Johannes Hattingh

Studieleier: Professor Jacobus F. van Staden

Departement Chemie,

Universiteit van Pretoria

Graad: Magister Scientiae

SAMEVATTING

'n Kort inleiding rakende die geskiedenis van vloeisisteme en membraanskeidings word gegee. 'n Teoretiese agtergrond van vloeï-inspuitalise word gegee. Die werking en teorie van 'n aanlyn gekoppelde dialisesisteam word behandel. Die volgende faktore wat die effektiwiteit van dialise in 'n vloeisisteam beïnvloed, is bestudeer: Die vloeitempo van die skenker- en ontvangerstrome; die vloeirigtings van die skenker- en ontvangerstrome ten opsigte van mekaar; die oppervlak (area) van die dialisemembraan waardeur dialise plaasvind; die volume van die skenker- en ontvangerstrome. By die volume- en oppervlakondersoeke was die skenker- en ontvangerstrome in geslote lusse. Ondersoek na die gebruik van verskillende reeksdialiseerders is ingestel. Ondersoek na die aanlynverdunding en prekonsentrasie van monsters in 'n vloeisisteam is uitgevoer. Die

ontwikkeling en optimisering van die sisteem word bespreek.

Membrane separations with dialysis in flow systems

by

Cornelius Johannes Hattingh

Supervisor: Professor Jacobus F. van Staden

Department of Chemistry,

University of Pretoria

Degree: Master of Science

SYNOPSIS

A brief introduction concerning the history of flow systems and membrane separations is given. A theoretical background on flow-injection analysis is given. The theory and operation of an on-line dialysis system is discussed. The following factors influencing the efficiency of dialysis in a flow system was studied: The flow rate of the donor- and acceptor streams respectively; the area of the membrane through which dialysis should take place; co- and counter flow of the donor and acceptor respectively; the volume of the donor- and acceptor streams. The studies concerning the volume- and area factors, was done in a closed loop system. An investigation is made into dialysers in series. An investigation is made into the on-line dilution and pre-concentration of a sample by means of dialysis. The development and optimisation of this system is discussed.

Bedankings

Hiermee betuig die skrywer sy dank teenoor:

- professor JF van Staden, sy studieleier, vir sy hulp tydens die navorsing en met die skryf van hierdie verhandeling,

- die analitiese groep by MINTEK, onderleiding van mnr. Graham Marshall, vir hulle hulp met die werking en installing van die FlowTek program, asook raad tydens die uitvoer van eksperimentele werk,

- mnr Johann L. Fischer vir die hulp met die rekenaarprogrammatuur met die skryf van hierdie verhandeling,

- sy ouers, mnr en mev Hattingh, vir al hulle aanmoediging en ondersteuning,

- vriende by die Universiteit van Pretoria vir hulle hulp en aanmoediging met die projek.

Hierdie werk is opgedra aan my
oupa Frans (08/08/1915 - 25/08/1987),
en ouma Eva (20/12/1919 - 25/12/1991)
Geldenuys.

Inhoudsopgawe

Hoofstuk 1. Inleiding

Hoofstuk 2. Geskiedkundige oorsig van Vloeisisteme en Membraanskeidings

2.1	Vloeisisteme	6
2.1.1	Inleiding	6
2.1.2	Historiese agtergrond van kontinue-vloeisisteme	6
2.2	Membraanskeidings	8
2.2.1	Inleiding	8
2.2.2	Historiese agtergrond van membraanskeidings	9
2.3	Verwysings	13

Hoofstuk 3. Teoretiese agtergrond van Vloeisisteme en Membraanskeidings

3.1	Kontinue-vloeisisteme	14
3.1.1	Inleiding	14
3.1.2	Vergelyking tussen VIA en GVA	15
3.1.3	Basiese beginsels van VIA	19
3.1.4	Komponente van 'n basiese VIA-sisteem	23
3.2	Agtergrond en teorie van membraanskeidings	29
3.2.1	Inleiding	29
3.2.2	Skeidingstegnieke	30
3.2.3	Nie-Chromatografiese skeidingstegnieke	33
3.2.4	Membraanskeidings	33
3.2.5	Beginsels en teorie van dialise	33
3.2.6	Basiese komponente van 'n dialiseerder	46
3.2.7	Faktore wat dialise beïnvloed	48
3.3	Verwysings	51

Hoofstuk 4. Bepalingsmetodes

4.1	Inleiding	52
4.2	Die keuse van 'n kleurreagens vir die bepaling van koper en sink	56
4.3	Die werking van xilenoloranje in 'n VIA-sisteem	57
4.4	Eksperimenteel	58
	4.4.1 Reagense en apparaat	58
	4.4.2 Metode	61
	4.4.3 Resultate en bespreking	62
4.5	Verwysings	70

Hoofstuk 5. Faktore wat dialise beïnvloed

5.1	Inleiding	71
5.2	Eksperimenteel	71
	5.2.1 Reagense en apparaat	71
5.3	Die invloed van vloeitempo op dialise	73
	5.3.1 Metode	73
	5.3.2 Resultate en bespreking	76
5.4	Bepaling van die invloed van volume op dialise	78
	5.4.1 Metode	78
	5.4.2 Resultate en bespreking	81
5.5	Bepaling van die invloed van oppervlakte op dialise	88
	5.5.1 Metode	88
	5.5.2 Resultate en bespreking	91
5.6	Verwysings	94

Hoofstuk 6	Reeksdialiseerders	
6.1	Inleiding	95
6.2	Eksperimenteel	95
6.2.1	Reagense en apparaat	95
6.2.2	Metode	98
6.2.3	Resultate en bespreking	102
6.3	Verwysings	109
Hoofstuk 7.	Verdunning met behulp van dialise	
7.1	Inleiding	110
7.2	Eksperimenteel	112
7.2.1	Reagense en apparaat	112
7.2.2	Metode	114
7.2.3	Resultate en bespreking	117
7.3	Verwysings	125
Hoofstuk 8.	Beheerbare verdunning	
8.1	Inleiding	126
8.2	Eksperimenteel	128
8.2.1	Reagense en apparaat	128
8.2.2	Metode	131
8.2.3	Resultate en bespreking	134
8.3	Verwysings	143
Hoofstuk 9.	Gevolgtrekking	144

Hoofstuk 1

Inleiding

"Is daar iets waarvan 'n mens kan sê: Kyk hier dit is nuut? Dit was lankal daar in die ou tyd wat voor ons gewees het." [1] Dit is in der waarheid die geval. Deur al die eeue was die mens, gedryf deur sy wil op oorlewing, altyd besig om nuwe uitvindings te maak. Die waarheid is egter dat die mens nie self vir die uitvindings verantwoordelik was nie maar, dat dit reeds vanaf die begin van die aarde teenwoordig was. Vir elke uitvinding wat deur die mens gemaak word, is daar reeds 'n replika, van die uitvinding, in die natuur teenwoordig. Van die begin af was die gebruik van dialise as 'n suiweringsstelsel, reeds in verskeie sisteme in die natuur, teenwoordig. Kyk byvoorbeeld op die vlak van die sitologie. Die intra-sellulêrevloeistof in 'n lewende sel word, van die ekstra-sellulêrevloeistof, deur 'n semi-deurlatende membraan geskei. [2] Hierdie membraan se funksies is gebaseer op die gebruik van osmose en dialise. Oor die algemeen bestaan die membraan uit 'n dubbele lipiedlaag waarin daar gewoonlik 'n aantal proteïene ingebed is. Hierdie membrane is gewoonlik vir die meeste ione en vir water deurlaatbaar. Dit is egter nóóit vir proteïene deurlaatbaar nie. Hier kan dus op hierdie klein skaal reeds 'n voorbeeld van 'n dialisesistelsel in die natuur gevind word. Netso kan daar in die meeste meersellige organismes 'n vloeisistelsel waargeneem word. 'n Varswater oester, met die genusnaam *Anadonta*, neem sy voedsel en suurstof op met behulp van so 'n vloeisistelsel. [3] 'n Voorbeeld, van 'n organisme, wat van 'n gekombineerde vloei/dialisesistelsel gebruik maak, word in die filum Porifera gekry. Dit is 'n spons, naamlik *Scypha*, wat van sy flagella gebruik maak om water in die sentrale liggaamsholte in te pomp. Voedingstowwe wat in die

water teenwoordig is, word opgeneem. Een van die verteringsprodukte is ammoniak. Die organisme raak van die ammoniak ontslae met behulp van diffusie vanuit die selle op die rand van die sentrale liggaamsholteholte. Die ammoniak word weer eens deur die aksie van die flagella by die oskulum (opening in die liggaamsholte) van die organisme uitgepomp.

Die grootste wetenskaplike uitvindings wat deur die mens gedoen is, het gewoonlik in tye van nood voorgekom. Daar kan byvoorbeeld aan die ontwerp van die atoombom gedink word wat deur die Duitsers in die Tweede Wêreldoorlog begin, en deur die Amerikaners voltooi is. Die analitici van vandag is ook in 'n oorlog betrokke. Daar is 'n aanslag van duisende analises wat per dag gedoen moet word, deur die minimum personeel en die minimum fondse. Daar moet dus metodes ontwikkel word wat vinnig, dog doeltreffend en goedkoop, met die minimum arbeid bestuur kan word. Om so 'n metode te ontwikkel moet daar na die natuur as 'n biblioteek gegaan word vir die verkryging van beproefde metodes en sisteme.

Vloeisisteme, en in die besonder vloeï-inspuitanalise, verleen homself uitstekend aan hierdie doel. Vloeisisteme kan met die minimum fondse beskikbaar gebou, en bedryf word. Dit is verder ook moontlik om vloeisisteme te outomatiseer sodat die minimum arbeid aangewend hoef word vir die bedryf van so 'n sisteem. Monstervoorbereiding kan 'n baie tydrowende operasie wees. Daar moet dus ook na 'n monstervoorbereidingsmetode, wat aanlyn in die vloeisisteam geskakel word, gesoek word. Dialise, soos wat in die geval van die sitologie hierbo genoem, is in staat om teen verskillende stowwe te diskrimineer. Dialise kan dus as 'n skeidingsisteam nagevors word.

Dit is dus noodsaaklik om, rakende die kombinasie van vloeï- en dialisesisteme, navorsing

te doen. Daar is al 'n groot aantal navorsers by die verbetering van vloeï-inspuitanalisesisteme, wat 'n belangrike onderafdeling van vloeisisteme is, betrokke. Daar is in 1993 alleen, meer as 4000 publikasies rakende vloeï-inspuitanalise, gepubliseer. [4] Navorsing, op die gebied van aanlyn dialise in 'n vloeisisteam, het egter agterweë geraak. Die gebruik van dialise in 'n vloeisisteam kan groot voordele vir die outomatisasie van monstervoorbereiding inhou.

Die hoofdoel van dialise in 'n vloeisisteam is die aanlyn monstervoorbereidingsfunksies wat deur die dialiseerder uitgevoer kan word. Dialisemembrane word gebruik om steurende spesies in die monster van die analiet te skei. 'n Verdere gebruik van dialise in vloeisisteme is die aanlyn verdunning van gekonsentreerde monsters.

Die doel van hierdie studie was om die faktore wat die effektiwiteit van dialise in 'n vloeisisteam beïnvloed te ondersoek. Die volgende faktore is ondersoek:

- (i) Die vloeirigting van die skenker- en ontvangerstrome ten opsigte van mekaar.
- (ii) Die vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstrome in die dialiseerder.
- (iii) Die grootte van die oppervlakte (area) waardeur dialise in die dialiseerder plaasvind.
- (iv) Die volume-invloed indien beide die skenker- en ontvangerstrome in 'n geslote lus voorkom.

'n Verdere doel van hierdie studie was om die invloed van verskillende tipes reeksdialiseerders te vergelyk. Twee tipe reeksdialiseerders, naamlik 'n dubbeldialiseerder waarvan die twee semi-deurlaatbare membrane in serie gekoppel was en twee enkeldialiseerders wat in serie gekoppel was, is ondersoek. Die laaste ondersoek wat gedoen

was, was die konsep van beheerbare verdunning in 'n vloeisisteam met behulp van 'n aanlyn gekoppelde dialise-eenheid. In hierdie geval was daar van een enkeldialiseerder of van twee enkeldialiseerders, wat in serie geskakel was, gebruik gemaak. In gevalle waar die verdunning van die dialiseerder te groot was, is daar van ion-uitruilhars gebruik gemaak om die analiet weer te konsentreer. In hierdie studie is daar ook deeglik kennis gemaak met die vermoë van die dialiseerder om as skeidingstegniek aangewend te word by monsteranalises.

Verwysings

1. Prediker 1 :10.
2. Harvey R J (1974) **The kidneys and the internal Environment.** Halsted Press.
3. Boolootain RA, Stiles KA (1981) **College Zoology.** Macmillan Publishing Co., Inc.
4. Marshall G (1994) **Flow-injection Analysis - From Laboratory to Process.** Lesing aangebied by die VIA-skool gehou op 10 Februarie 1994 by die Indaba Hotel, RSA.

Hoofstuk 2

Geskiedkundige oorsig van Vloeisisteme en Membraanskeidings

2.1 Vloeisisteme

2.1.1 Inleiding

Een van die primêre doelwitte tans is om die menslike deelname in chemiese analise tot die minimum te beperk. In die VSA is daar, gedurende die jaar 1976, ongeveer 100 miljoen monsters deur kliniese analitiese laboratoria ontleed. [1] Wêreldwyd word daar groot druk op analitici geplaas om vinnige, dog doeltreffende metodes te ontwikkel vir die verwerking van groot getalle monsters. Daar moes dus instrumente ontwerp, en metodes ontwikkel word wat aan dié wêreldwye vraag, na die ontleding van groot volumes data, voldoen. Hierdie instrumente en metodes moet ook hierdie data, wat verlang word, akkuraat en presies kan bepaal. Alle groot hospitaal laboratoriums besit vandag gesofistikeerde, ge-outomatiseerde kliniese analiseerders. Hierdie analiseerders kan in drie groepe verdeel word naamlik deurlopende vloei of kontinue-vloei (KV), diskreet en sentrifuge. In hierdie projek is net die kontinue vloei-metodes ondersoek.

2.1.2 Historiese agtergrond van kontinue-vloeisisteme

Die idee vir die ontwikkeling van vloei-inspuitanalise was reeds bekend aan die einde van 1959 [2][3]. Die konsep om 'n monster direk in 'n kontinue-vloeiende stroom in te spuit en dit deurlopend te monitor was reeds in 1952 bekend. [3] In 1957 het Leonard Skeggs 'n gesegmenteerde kontinue-vloei-sisteem ontwerp. In hierdie sisteem is lugborrels gebruik om oormatige dispersie van die analiet te voorkom. Verdere funksies van hierdie

lugborrels was om te voorkom dat daar 'n vermenging tussen twee opeenvolgende analises plaasvind en om goeie vermenging van die analiet te verseker. In dieselfde jaar is hierdie proses, wat deur Skeggs ontwikkel is, kommersieel as die sogenaamde AutoAnalyzer deur die Technicon Koöp bemark. So het die AutoAnalyzer die eerste algemeen gebruikte ge-automatiseerde analitiese toerusting in kliniese en ander laboratoria geword. [1] Hierdie toerusting was ook die mees algemeen gebruikte toerusting vir ge-automatiseerde analise van monsteroplossings voor die uitvinding van vloeï-inspuitanalise (VIA). Hierdie ontwerp van Skeggs het dus direk aanleiding tot die ontwikkeling van vloeï-inspuitanalise gegee. [3]

In 1970 het Nagy, Feher en Pungor die gebruik van grafielektrodes vir die voltammetriese bepaling van monsters, wat in 'n nie-gesegmenteerde kontinue-vloeiende stroom ingespuit is, gerapporteer. Dit is sover bekend die eerste keer dat vloeï-inspuitanalise, soos wat dit tans bekend is, gebruik is. [3] In 1972 het Bergmeyer en Hagen sekere kritiese punte van vloeï-inspuitanalise beskryf. [3] Gerding en medewerkers het ook in 1972 'n groot deurbraak gemaak met die outomatisering van 'n vloeï-inspuitsisteam. In 1974 het verdere ontwikkeling plaasgevind op die gebied van nie-gesegmenteerde kontinue-vloeiende inspuitsteme. [3]. Hier kan veral verwys word na die werk wat deur navorsingsgroepe soos Feher en Pungor in Hongarye, asook die van Stewart, Beecher en Hare gedoen is. Dit was egter in 1975 dat die groepe van Ružička en Hansen in Denemarke, en Stewart, Beecher en Hare in die VSA, besef het dat vloeï-inspuitanalise 'n groot uitdaging bied vir verbetering aan die sogenaamde gesegmenteerde metodes. [2][4][5] Daar kan gesien word dat, sodra 'n nuwe konsep aan die analitiese gemeenskap bekend gestel word, dit die produk van verskillende konsepte en navorsers was. [6] In 1977 het Basson sy weergawe van ge-automatiseerde vloeï-inspuitanalise bekend gestel. [6] In dieselfde jaar is patente toegestaan vir vloeï-

inspuitanalisesisteme. [3] Hierna is daar nog verskeie artikels gepubliseer rakende die konsepte van vloeï-inspuitanalise deur navorsers soos Dutt, Mottola, Van der Slice en Van Staden. Daar is gevind dat vloeï-inspuitanalise 'n baie kragtige tegniek is, nie net vir kontinue analyses nie, maar ook waar daar van skeidingstegnieke gebruik gemaak word. [1][3]

2.2 Membraanskeidings

2.2.1 Inleiding

Oor die laaste dertig jaar het verskeie industrieë van membraantegnologie gebruik gemaak. Dit is 'n hoogs gefragmenteerde tegnologie wat aangewend word in prosesse soos omgekeerde osmose, gasskeidings, beheerde vrylatende farmaseutiese formulerings en dan natuurlik ook die kunsmatige nier. Die wetenskaplike- en ingenieurdisiplines is baie uiteenlopend en sluit byvoorbeeld fisiese en polimeerchemie, elektrochemie en chemiese ingenieurswese in. [6]

Tot ongeveer die middel van hierdie eeu was membraanwetenskap 'n relatief klein studieveld wat slegs om die fisiese wetenskaplike aspekte gesentreer was. Alhoewel dit 'n baie lang geskiedenis het, was daar baie min toepassings gedurende hierdie tydperk. Na hierdie tyd is daar egter, verskeie mylpale ten opsigte van membrane behaal. Dit het gelei tot die ontwikkeling van membraantegnologie. [6]

2.2.2 Historiese agtergrond van membraanskeidings

Die eerste genoteerde studie van membrane is deur die Fransman Abbé Nollet in 1748 uitgevoer. [6] Hy het wyn in 'n houer geplaas en die opening van die houer met 'n dier se galblaas toegemaak. Hierna is die houer in suiwer water gedompel. Omdat die galblaas meer deurlaatbaar vir die water as vir die wyn was, het die water deur die membraan na die binnekant van die houer deurgedring sodat die galblaas opgeswel en soms ook gebars het. In 1855 het Fick sy diffusiewette gepubliseer. [6] Hierdie wette word vandag nog deur verskeie wetenskaplikes gebruik (kyk hoofstuk 3). In dieselfde jaar het Fick kunsmatige, semi-deurlaatbare membrane ontwerp en ondersoek. [6] In ongeveer dieselfde tyd het Thomas Graham die eerste keer navorsing op dialise met die hulp van sinteties vervaardigde membrane gedoen. (Graham is ook bekend vir sy wette in gasdiffusie.) Graham het verder ontdek dat rubber nie ewe deurlaatbaar vir alle soorte gasse is nie. Daar is ook navorsing deur Traube, Pfeffer en Van't Hof op osmose gedoen. Hulle werk het gelei tot die verwantskappe in osmotiese druk. Hierdie verwantskappe is na Van't Hof vernoem. [6]

Daar is baie navorsing, deur die navorsingsgroepe van Zsigmondy en Bachmann, Manegold en Bechhold, Elford en Grabar, aan die einde van die negentiende eeu en begin van die twintigste eeu gedoen op veral die membrane wat as filters kan optree. Hierdie werk staan vandag beter bekend as ultrafiltrasie. [4][6]

Die eerste omgekeerde osmose, soos wat dit vandag bekend staan, is in die 1920's deur Manegold, Michaelis en McBain op sellofaan of sellulose-nitrat membrane gedoen. Navorsing op omgekeerde osmose het hierna stil gestaan tot ongeveer dertig jaar later, toe dit verder gevoer is deur Reid en sy studente. [6]

Tydens die Eerste Wêreldoorlog het Donnan die verspreiding van makro-molekules en gelaaië mikromolekulêre spesies oor semi-deurlaatbare membrane bestudeer. Na aanleiding van sy werk is die Donnan distribusiewet by Donnan dialise en gekoppelde vervoer geformuleer. [6]

Die bewegingsteorie oor 'n neutrale membraan of oor 'n membraan met 'n vaste lading het oor byna 'n honderd jaar ontwikkel. Een van die groot hoogtepunte in hierdie ontwikkeling is deur Teorell, Meyer en Sievers in die middel 1930's gedoen. Dit het die basis vir beide elektro-dialise en moderne membraanelektrodes gevorm. [6]

Een van die eerste praktiese toepassings van dialise was die gebruik van die kunsmatige nier deur Willem Kolff in Holland in die 1940's. Die moderne kunsmatige niere soos dit vandag bekend is, is ontwikkel uit hierdie pionierswerk van Kolff. [4][6]

Tot en met 1950 was daar slegs geïsoleerde gevalle bekend waar industrieë van membrane gebruik gemaak het. Membrane is hoofsaaklik op 'n baie klein skaal op laboratoriumvlak gebruik. Die rede hiervoor is hoofsaaklik toe te skryf aan die beskikbaarheid van ander, meer ekonomiese skeidingstegnieke. Distillasie, as 'n skeidingstegniek, was meer selektief en vinniger as die membrane wat in daardie tyd beskikbaar was. Alhoewel die energie benodig om 'n distillasie-apparaat te onderhou hoog is, was die energie daardie tyd relatief goedkoop. In die 1950's het hierdie situasie, in veral die VSA, begin verander met die meer algemene gebruik van membrane as skeidingstegniek.

In hierdie verhandeling is daar net van dialise as skeidingstegniek gebruik gemaak en sal daar, om hierdie rede, vir die latere geskiedenis meer gekonsentreer word op dialise self.

Abel, Rountree, en Turner het in 1914 die eerste dialise eksperimente beskryf. Dialise is nooit as 'n industriële proses gebruik nie, maar is hoofsaaklik in die mediese veld aangewend. Die hoofredes hiervoor was dat die dialise proses te stadig was en oor die algemeen nie baie selektief is nie. Die eerste werklike toepassing van dialise was in die middel van die 1930's toe dialise, met behulp van 'n sellofaanmembraan, gebruik is om sout en ander lae-molekulêre-massa opgeloste stowwe uit entstowwe en serum te verwyder. Dialise word hoofsaaklik hedendaags aangewend in die behandeling van pasiënte wat aan nierversaking ly deurdat dit van die ureum, uriensuur en kreatien vanuit die bloed verwyder. [4]

Die eerste keer dat dialisemembrane kommersieel beskikbaar geraak het, was in 1950. Die konsep van massa-oordrag in aanlyn analitiese dialiseerders is vir baie jare in kontinue-vloeisisteme toegepas. Die gebruik van aanlyn dialise in gesegmenteerde kontinue-vloeisisteme is die eerste deur Skeggs in 1957 beskryf in sy werk oor dialise op geoutomatiseerde kolorimetriele analise van ureum in bloed. Hierna het daar, in veral die kliniese veld, 'n geleidelike groei in die toepassings van dialise in gesegmenteerde vloeisisteme voorgekom. [4]

Die eerste kontinue-vloeisisteam wat gebruik is, sonder om van lugsegmentasie gebruik te maak, is deur Kadish en Hall in die middel sestigerjare beskryf. [4] Hulle het dialise effektiwiteit verhoog, deur van 'n peristaltiese pomp en 'n dialiseersisteam gebruik te maak,

soortgelyk aan die dialiseersisteen wat in 'n AutoAnalyzer gebruik word, maar natuurlik sonder lugsegmentasie. Bloedmonsters is kontinu direk na die dialiseerder gepomp en gedialiseer in 'n ongesegmenteerde ontvangestroom. Brown het egter ook gerapporteer dat goeie resultate verkry is deur van 'n lug-gesegmenteerde ontvangerstroom in die dialiseerder gebruik te maak. [4]

In 1975 is die eerste aanlyn dialise met behulp van vloeï-inspuitanalise deur Hansen en Růžička beskryf in die bepaling van anorganiese fosfaat en chloried in bloed. Hulle het verder vergelykende studies gedoen tussen metodes waar kontinue-vloeïdialise as skeidingstegniek gebruik is teenoor ander skeidingsmetodes deur hulle bestudeer. Daar is tot die gevolgtrekking gekom dat die aanlyn gebruik van dialise nie 'n baie praktiese konsep is nie. Hierdie gevolgtrekking het gevolglik daartoe gelei dat dialise nie op 'n gereelde grondslag saam met vloeï-inspuitanalise gebruik is nie. Van Staden en Basson het in 1980 die verdunningseffek van dialise in vloeï-inspuitanalise ge-eksploteer. [4]

2.3 Verwysings

1. Snyder L, Levine J, Stoy R, Conetta A (1976) **Anal. Chem.** **48**: 942A.
2. Mottola HA (1981) **Anal. Chem.** **53**: 1313A.
3. Steward KK (1981) **Talanta** **28**: 789.
4. Van Staden JF (1993) **LRA** **6**: 29.
5. Ranger CB (1981) **Anal. Chem.** **53**: 20A.
6. Lonsdale H K (1982) **J. Membr.Sci.** **10**: 81.

Hoofstuk 3

Teoretiese agtergrond van Vloeisisteme en Membraanskeidings

3.1 Kontinue-vloeisisteme

3.1.1 Inleiding

'n Toenemende vraag na chemiese analises van monsters het gelei tot die ontwikkeling van verskeie outomatiese analisesisteme. Die vraag na ge-outomatiseerde instrumente in vloeistofanalise het elke jaar met 15% toegeneem, terwyl die vraag na ander analitiese instrumente met slegs 9% jaarliks toegeneem het. [1]

Kontinue-vloeimetodes is analitiese metodes waarin die analiet- of monsterkonsentrasie bepaal word sonder om die vloei van die gas of die vloeistof in die sisteem te stop. In kontinue-vloei-analiseerders word die monster in die stroom ingelaat of ingespuut waarna dit deel word van 'n kontinuu bewegende stroom. Reagense word by verskillende punte in die kontinuu bewegende stroom, waarin die monster vloei, teen 'n konstante vloeitempo bygevoeg. Die gesamentlike stroom van al die reagense en die monster vloei na 'n detektor wat op 'n voortdurende basis meet en dienoreenkomstig 'n kwantitatiewe sein op 'n kontinue basis weergee. Dit is die basiese beginsel waarop alle kontinue-vloei-analiseerders funksioneer. 'n Groot aantal konfigurasies rakende die opstelling van elke kontinue-vloeisisteme kom voor. Kontinue-vloeisisteme kan hoofsaaklik in twee groepe verdeel word, naamlik gesegmenteerde kontinuevloei-analise, GVA en nie-gesegmenteerde kontinue-vloei-analise, VIA. [2][6]

3.1.2 Vergelyking tussen VIA en GVA

GVA is geskoei op die werk van Skeggs (kyk hoofstuk 2), terwyl VIA, baie jonger is, en ontstaan het uit veral die navorsing van Nagy, Pungor en Feher, Bergmeyer, Hagen, Steward, Beecher en Hare, en Růžička en Hansen. (Kyk tabel 3.1 vir die vergelyking tussen hierdie twee metodes.) Die aanwesigheid van lugborrels by GVA en die afwesigheid daarvan by VIA, is die vernaamste onderskeidende kenmerk tussen hierdie twee sisteme. Die doel van die lugborrels in GVA is die volgende: [2][3][4]

- voorkoming van kontaminasie tussen verskillende monsters;
- vermindering van dispersie en die gepaardgaande verdunning;
- veroorsaak turbulente vloei deur die samepersing van die lugborrels en gee daardeur 'n fisiese sowel as 'n chemiese ewewig. (Met ander woorde vermenging.)

GVA het die volgende nadele: [1][2]

- (i) Die tegniese kompleksiteit van die sisteem verhinder dat die sisteem geminiaturiseer word.
- (ii) Die gepaartgaande saampersbaarheid van die lugborrels veroorsaak dat daar 'n puls in die sisteem voorkom wat op sy beurt weer veroorsaak dat daar 'n vertraging in die opneem van die sein voorkom.
- (iii) In hierdie sisteem moet daar 'n aantal meganismes aangewend word om die monster in te aspireer, en om aan die einde van die sisteem van die lugborrels ontslae te raak.
- (iv) Daar is 'n verlaging in die effektiwiteit by kontinue-skeidingsmeganismes (byvoorbeeld dialise) as gevolg van die relatiewe kort kontaktyd, en die klein tussenvlak wat die analiet met die skeidingsmeganisme het.

- (v) Statiese elektrisiteit kan opbou wat tot gevolg sal hê dat daar steurings kan voorkom waar daar elektrochemiese detektors gebruik word.
- (vi) Die vloeitempo is moeilik beheerbaar as gevolg van die teenwoordigheid van lugborrels in die sisteem.

Omdat VIA geen lugborrels in die sisteem het nie, het dit dus die volgende voordele: [1][2]

- (i) Die vloeitempo's is meer herhaalbaar.
- (ii) Die apparaat wat nodig is, is baie minder gekompliseerd as dié by GVA en dienoreenkomstig baie goedkoper.
- (iii) Die sisteem kan baie maklik geminiaturiseer word.
- (iv) Die tempo van monsterneming is baie hoog.

Op tegniese gebied kan daar ook 'n aantal verskille tussen VIA en GVA genoem word. Daar is byvoorbeeld geometriese verskille wat die twee vloesisteme betref. Die buisies se deursnee in die geval van VIA is baie kleiner as in die geval van GVA. So is die vloeitempo in die geval van VIA stadiger as in die geval van GVA. By GVA word die monster nie direk in die stroom ingespuut soos die geval is by VIA nie, maar word dit eerder in gespireer. Die tyd wat dit neem om 'n monster te analiseer neem baie langer in die geval van GVA as in die geval van VIA. Laastens, wat die tegniese aspekte van die twee sisteme betref, kan dit genoem word dat die uitwassiklus in die geval van GVA uiters belangrik is om te verhoed dat daar kontaminasie tussen die monsters plaasvind, maar in die geval van VIA is dit glad nie nodig nie. Die feit dat die monsters in die geval van GVA deur lugborrels geskei word, verhoed egter nie dat daar wel kontaminasie tussen die monsters

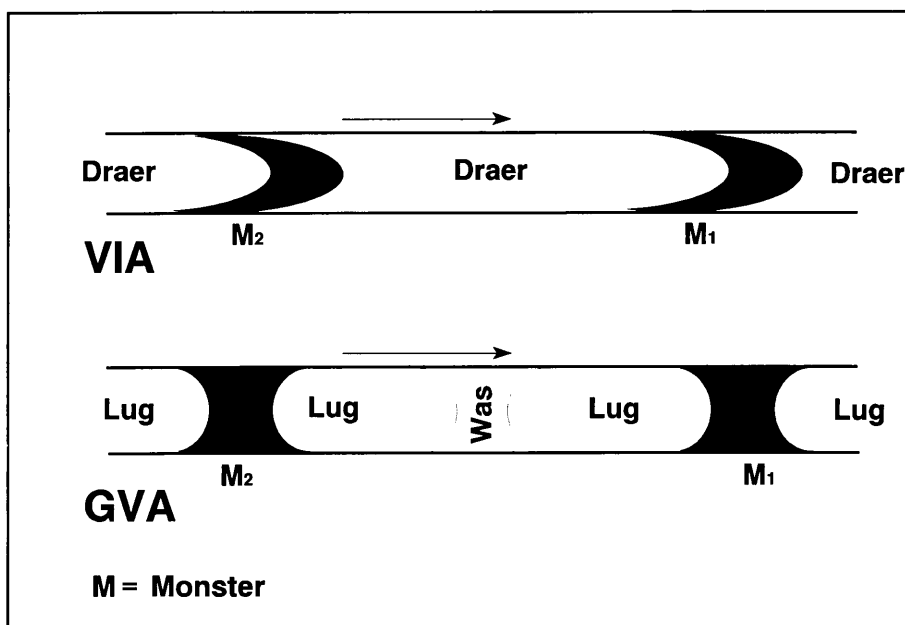
Tabel 3.1 'n Vergelyking tussen die eienskappe van GVA, HPLC en VIA (geneem uit 2 en 4).

Parameter	GVA	HPLC	VIA
Monster invoeging	aspireer	ingespuit	ingespuit
Monstervolume	0.2 tot 2 cm ³	klein (μ l)	10 tot 100 μ l
Responstyd	2 tot 30 min	varieer	3 tot 60 sek
Deursnee van pyp	2 mm	< 1mm	0.5 tot 0.7mm
Deteksie	by ewewig homogenisiteit		met gekontroleerde dispersie
Monster frekwensie	\leq 80 monsters per uur	stadig	\leq 300 monsters per uur
Presisie	1 tot 2 % (RSA)	hoog	1 tot 2 % (RSA)
Reagens verbruik	hoog	laag	laag
Uitspoelsiklus	essensieel		onnodig
Kontinue kinetiese ondersoeke	nie moontlik		stop-vloei is moontlik
Titrasies	nie moontlik		is moontlik
Pompdruk	laag	hoog	laag
Pompspoed	vas	varieer	varieer
Kolom	moontlik	ja	moontlik
Vertragingfase	groot	weglaatbaar	weglaatbaar
Data prosessering	by piekhoogte	integrasie by piekoppervlak	by piekhoogte, piekoppervlak, piekwydte en piek na piek afstand

plaasvind nie (kyk figuur 3.1) en moet daar nog 'n bykomende uitspoelstap bygevoeg word wat die proses baie uitgerek maak. [2]

Daar is besluit om VIA te gebruik vir alle eksperimentele werk op grond van die volgende oorwegings:

- Daar is baie voordele verbonde aan die gebruik van hierdie metode soos hierbo vermeld en ook soos deur Ranger bespreek. [4]
- Die algemene neiging is om eerder VIA as GVA te gebruik. (In 1993 alleen was daar meer as 4000 publikasies rakende VIA in internasionale joernale. [5])
- Die instrumente beskikbaar vir eksperimentele werk was beter geskik vir VIA as vir GVA.



Figuur 3.1 Skematiese voorstelling van die vloei in VIA en GVA na die inspuiting of aspirering van twee opeenvolgende monsters.

3.1.3 Basiese beginsels en werking van VIA

VIA kan as volg gedefinieer word: [2][4][6]

Dit is 'n ge-outomatiseerde of semi-outomatiese, nie-chromatografiese en nie-luggesegmenteerde analitiese proses wat uit die hoogs herhaalbare opeenvolgende inspuitings van die analiet in 'n vloeistroom bestaan, en die daaropvolgende deurlopende monitering van die vloeistroom deur 'n detektor.

Die primêre eienskappe van die VIA sisteem is die volgende: [4][6]

- Beheerbare monsterdispersie.
- Veranderbare vloeitempo.
- Basislynresolusie tussen elke monster.
- Baie monsters per tydseenheid.
- Geen stabilisasietyd nodig nie.

Die algemene VIA-sisteem werk op die volgende beginsels: [1][2][4][6]

'n Monster word in 'n ongesegmenteerde kontinu-vloeiende draerstream ingespuut as 'n sone. Die monstersone beweeg saam met die draerstream na 'n reaktor waar 'n analitiese proses plaasvind. Hier kan die monster met verskeie reagense reageer, ge-inkubeer, gedistilleer, gedialiseer of geëkstraheer word. Die reaksieproduk word na 'n vloeisel in 'n gepaste detektor vervoer, gemeet, en 'n analoë sein word verkry. Nadat die reaksieproduk in die detektor gemeet is, word dit saam met die vloeistofstroom na afval vervoer.

Voorsiening moet gemaak word dat die alikwot wat in die vloeistroom ingespuut word, op 'n hoogs herhaalbare wyse geskied. Sodra die monster in die stroom ingespuut is, vorm dit

'n goed gedefinieerde monsterprop in die stroom. Soos wat die monster in die vloeistroom afgevoer word, vind daar dispersie plaas en vorm daar dus 'n konsentrasiegradiënt in die monsterprop. Die mate van dispersie hang van faktore soos monstervolume, deursnee en die lengte van die buisies, vloeitempo en die deursnee van die reaktorspoel af.

Die volgende vergelyking gee die totale dispersie wat in die sisteem voorkom en waar dit voorkom. [2]

$$D = D_{inspuit} + D_{vervoer} + D_{detektor} \quad \dots(3.1)$$

$D_{inspuit}$: dispersie as gevolg van beide die monstervolume en die geometriese eienskappe van die sisteem;

$D_{vervoer}$: dispersie as gevolg van die geometrie van die reaktor en die vloeitempo van die draerstream;

$D_{detektor}$: dispersie as gevolg van die geometrie van die vloeisel.

In die boek van Valcàrcel en Luque de Castro [2] word die verskillende redes vir dispersie breedvoerig bespreek. In 'n sisteem, kan die mate van dispersie in drie dele geklassifiseer word, naamlik: [2][4]

- (i) Min dispersie. ($D < 3$) By hierdie sisteme word die analiet bepaal waar dispersie hoofsaaklik as gevolg van vervoer plaasvind. Hier kan detektors soos elektrodes en atoomabsorpsie spektrofotometers gebruik word.
- (ii) Medium dispersie. ($3 < D < 10-15$) By hierdie sisteme kom daar ook gewoonlik, behalwe vir vervoer, 'n chemiese reaksie voor. Om hierdie rede moet daar 'n mate van vermenging in die buisies plaasvind wat dan aanleiding

gee tot hoër dispersie. Hier kan 'n detektor gebruik word wat die reaksieprodukt in die draerstream monitor op grond van 'n kleurreaksie, fluoresensie of elektro-reaktiewe produkte.

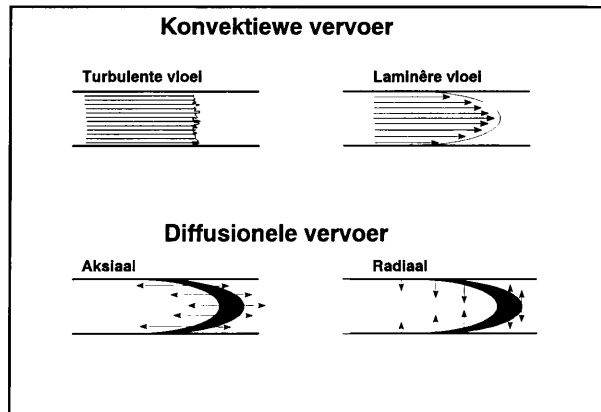
- (iii) Groot dispersie. ($D > 10^{-15}$) 'n Hoë mate van vermenging tussen die draerstream en die reagense kom voor wat aanleiding gee tot 'n hoë konsentrasiegradiënt. Hierdie hoë mate van vermenging word verkry deur byvoorbeeld van 'n roerder of van 'n baie lang reaktorbuis gebruik te maak. Hierdie metodes word gewoonlik gebruik wanneer kontinue-vloei titrasies uitgevoer word vir die ondersoek van die monsterstream interval.

Die grootste enkele faktor wat bydra tot dispersie, is vervoer. Vervoerdispersie kan in twee klasse verdeel word, naamlik: [2][7] (kyk figuur 3.2)

- (i) Konvektiewe vervoer. Dit vind onder laminêre vloei kondisies plaas en gee 'n paraboliese konsentrasiegradiënt omdat die beweging van die monsterprop teen die wande van die buis baie stadiger is as dié in die middel van die buis.
- (ii) Diffusionele vervoer. Dit vind as gevolg van die konsentrasiegradiënt, wat bestaan, plaas. Daar vind aksiale- sowel as radiale diffusie plaas.

Die volgende teoretiese model sluit konvektiewe- en diffusionele vervoer in die berekening in: (geneem uit [2] en aangepas soos in [8])

$$D_m \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) = \frac{\partial C}{\partial t} + u_{maks} \left(1 - \frac{r^2}{R^2} \right) \frac{\partial C}{\partial x} \quad \dots(3.2)$$



Figuur 3.2 Algemene tipes vervoer in geslote buise

C is die konsentrasie by die punte x , r , en t . D_m is die molekulêre-diffusiekoëffisiënt van 'n monsterprop wat in die buis vervoer word met x die buisdeursnee, r 'n molekule se afstand vanaf die middelpunt van die buis (met ander woorde vir die molekules teen die wand van die buis, is $r = R$, en vir die molekules in die middel van die buis is $r = 0$) en t die tyd. R is die buisstraal en u_{maks} is die maksimum vloeispoed in die middel van die buis.

Hierdie vergelyking is afgelei deur die massabalans toe te pas teen 'n differensiële element van volume, in ag genome die aksiale en radiale konsentrasie gradiënte, asook die vloeiprofiel onder laminêre vloeitoestande. Die vergelyking kan in twee dele opgebreek word, naamlik die linkerkant van die vergelyking en die regterkant van die vergelyking. Die linkerkant van die vergelyking stel die diffusionele vervoer voor. Die eerste term in die hakies verteenwoordig die aksiale diffusie terwyl die radiale diffusie verteenwoordig word deur die ander twee terme. Die eerste term, aan die regterkant van die vergelyking, verteenwoordig die konsentrasie-tydprofiel. Die konvektiewe vervoer word voorgestel deur die tweede term aan die regterkant van die vergelyking. Konvektiewe vervoer se snelheidsprofiel is in die vorm van 'n parabool met die volgende vergelyking:

$$u = u_{maks} \left(1 - \frac{r^2}{R^2}\right) \quad \dots(3.3)$$

Die molekules teen die buiswande ($r = R$) het geen snelheid ($u = 0$) nie, maar die molekules in die middel van die buis ($r = 0$) het maksimum snelheid ($u = u_{maks}$).

3.1.4 Komponente van 'n basiese VIA-sisteem

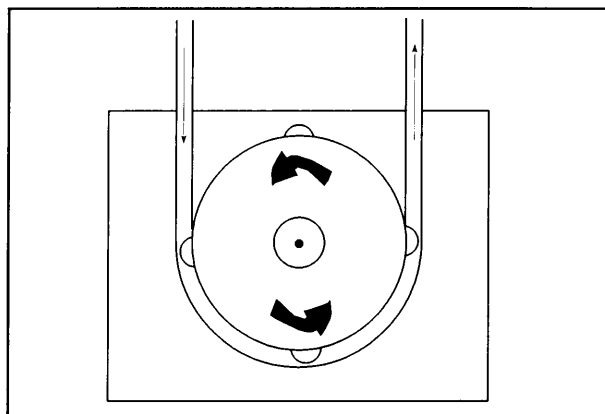
Die volgende komponente kom in 'n basiese VIA-sisteem voor:

- (i) Aandrywingsisteem wat die vloeistof deur die buise laat vloei.
- (ii) Die inspuit- of inlaatsisteem.
- (iii) Die vervoersisteem om die reagentiese en die monster met mekaar te verenig met die regte mate van dispersie en vermenging.
- (iv) 'n Deteksiesisteem wat die draerstream voortdurend monitor.

3.1.4.1 Aandrywingsisteem

'n Ideale aandrywingsisteem hou die vloeitempo in die buise konstant en puls-vry. Dit is egter onmoontlik om die vloei heeltemal puls-vry te hou met die kommersieel beskikbare aandrywingsisteme. Die volgende aandrywingsisteme is beskikbaar: [2]

- (i) Peristaltiese pompe. Hierdie pompe is die mees algemene sisteem van aandrywing by VIA. Aandrywing geskied deurdat 'n aantal rollers oor 'n aantal buigbare buisies loop en sodoende die buisies saampers en vloei daardeur veroorsaak. Hier word dus 'n puls-vloei verkry. [2] (Kyk figuur 3.3)



Figuur 3.3 Skematiese voorstelling van 'n peristaltiese pomp

- (ii) Gasdrukeenhede. Hierdie eenhede word aangedryf deur gebruik te maak van 'n inerte gas. Die druk van die gas veroorsaak die vloei in die buise. Om 'n konstante druk te handhaaf, is daar 'n klep in die eenheid ingebou. Die gas word nie direk in die buise ingepomp nie, maar veroorsaak slegs 'n druk op die reservoir van die oplossings wat die buise voer. Hierdie sisteem het twee nadele, naamlik dat dit moeilik is om die druk deur twee buise te beheer en daar is die moontlikheid dat gasborrels kan vorm.
- (iii) Eenhede gebaseer op gravitasie. Hier word dieselfde probleme as in (ii) ondervind. Aangesien daar van meer as een buis gebruik gemaak word, is dit moeilik om die vloeitempo te beheer.

3.1.4.2 Inspuitsiteem

Die hoofdoel van hierdie sisteem is om te verseker dat daar 'n goed afgebakende monsterprop, waarvan die volume akkuraat bepaal is, in die draerstream geplaas word. Aanvanklik is daar van naaldlose inspuitings gebruik gemaak [1], maar later is meer gesofistikeerde toerusting gebruik.

Die volgende sisteme kom voor: [2]

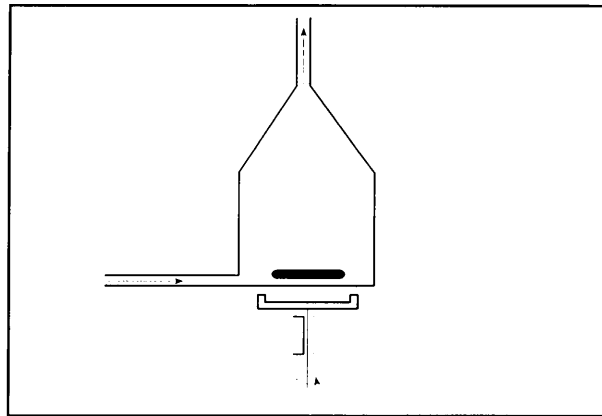
- (i) Roterende klep. Hierdie tipe sisteem kan nie met die hand ge-opereer word nie en moet deur 'n magnetiese skakelaar of deur 'n rekenaar beheer word.
- (ii) Proporsionele inspuiter.
- (iii) Solenoïedklep

3.1.4.3 Vervoersistees

Die grootste gedeelte van die vervoersistees bestaan uit 'n aantal buisies met 'n interne deursnee van 0.1 - 2.0 mm. 'n Verandering in die deursnee van die buis het 'n groot invloed op die dispersie. Die materiaal waarvan hierdie buise vervaardig is, moet inert wees teen die chemiese stowwe wat daardeur gaan vloei. Hierdie buise moet ook sodanig wees dat dit groot temperatuurveranderinge kan weerstaan. Die verskillende buisies word aanmekaar gekoppel met behulp van koppelstukke. Daar moet gepoog word om die afstand tussen die twee buise wat gekoppel word so klein as moontlik te hou aangesien dit dooie volume veroorsaak. [2]

Reaktore is dele van die vervoersistees wat die retensietyd beïnvloed en dit bepaal ook die mate van dispersie en vermenging van die monsterprop. Die reaktor bestaan uit 'n spoel (bestaande uit 'n buis van 'n bepaalde lengte wat om 'n silinder met 'n spesifieke deursnee gedraai is), 'n gepakte reaktor ('n sekere gedeelte van 'n buis wat gevul is met 'n chemiese inerte of aktiewe stof) of die enkel gepakte stringreaktor. As daar 'n groter mate van vermenging verlang word, kan van mengkamers gebruik gemaak word. Hierdie tipe van vermenging word hoofsaaklik verlang in gevalle waar van elektrochemiese detektors gebruik gemaak word, of as daar groot verskille in viskositeit, spesifieke gravitasie, of temperatuur

tussen die draerstream en die monster voorkom. Kyk figuur 3.4 vir die skematiese voorstelling van 'n homogeniserende mengkamer. [2]



Figuur 3.4 Homogeniserende mengkamer

3.1.4.4 Deteksie sisteem

'n Goeie deteksiesisteem in VIA moet die volgende eienskappe besit: [2]

- Volume van die vloeisel moet klein wees;
- Geraasvlak moet laag wees;
- Moet 'n vinnige en 'n lineêre respons gee oor 'n groot konsentrasie interval.
- Moet sensitief wees;
- Moet 'n aanvaarbare deteksielimiet lewer.

Die deteksielimiet is die laagste konsentrasie wat deur die instrument waargeneem kan word met 'n sekere statistiese foutfaktor. Statisties kan die deteksielimiet vir 'n gegewe detektor met behulp van vergelyking 3.4 bepaal word. [9]

$$\Delta x_{\min} = \bar{x}_1 - \bar{x}_b > ts_b \frac{N_1 + N_2}{N_1 N_2} \quad (3.4)$$

Die term, Δx_{min} , is die minimum kwantiteit wat met die detektor bepaal kan word. Die voetskrif b verwys na die lesings wat met blanko monsters bepaal is. Vergelyking 3.5 kan ook aangewend word om die deteksielimiet, van 'n analiet in 'n deteksiesisteam, te bepaal.

$$y - y_B = 3s_B \quad (3.5)$$

met y die deteksielimiet, y_B die seinwaarde van 'n blanko monster en s_B die standaardafwyking. [10]

Daar kan twee groepe deteksiesisteme by VIA onderskei word. In die eerste groep word die deteksie gedoen sonder dat dit deur 'n chemiese reaksie vooraf gegaan word. In die tweede groep word die deteksie voorafgegaan deur 'n chemiese reaksie.

Die volgende deteksiesisteme sal bespreek word: [2]

(i) Elektrochemiese deteksie

Hierdie sisteem word onder andere in watersisteme gebruik. Dit het 'n goeie sensitiviteit en 'n lineêre respons oor 'n wye konsentrasiegebied. Hierdie deteksiesisteam is ideaal vir 'n VIA-sisteam wat geminiaturiseer moet word. 'n Elektrochemiese detektor is sensitief vir óf die eienskappe van die oplossing waarin die analiet opgelos is, óf die van die analiet self. 'n Vergelyking tussen die verskillende elektrochemiese detektors kan in Tabel 3.2 gesien word.

(ii) Optiese sisteme [2]

Hierdie sisteem word die meeste in VIA-sisteme gebruik. Daar is verskeie redes hiervoor, soos byvoorbeeld die groot aantal verskillende tipe monsters

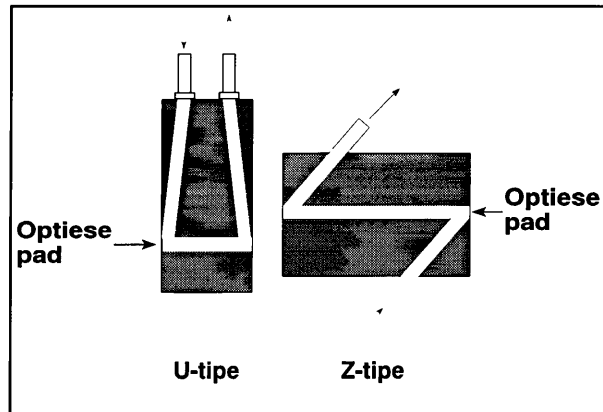
Tabel 3.2 Verskillende elektrochemiese detektors in VIA.

Werking gebaseer op eienskappe van die oplosmiddel	Werking gebaseer op eienskappe van die opgeloste stof
konduktometrie kapasitometrie	amperometrie polarografie coulometrie potensiometrie

wat geanaliseer kan word op grond van die spesifieke eienskappe van die monster self of op grond van die kleurreaksie wat die monster met ander reagentie ondergaan. Van al die optiese metodes word fotometrie die meeste gebruik. Aangesien fotometrie as een van die deteksie sisteme in hierdie projek gebruik is, sal dit alleen verder bespreek word. Fotometrie word baie algemeen gebruik as gevolg van die groot aantal optiese reaksies wat voorkom. Die grootste probleme wat met hierdie sisteem ondervind word, is die geraas agtergrond en die ligbron wat nie stabiel is nie. Twee verskillende tipes vloeiselle kan gebruik word, naamlik die U-tipe en die Z-tipe. (Kyk figuur 3.5)

(iii) Entalpietriese sisteem [2]

Hierdie sisteem word baie selde in VIA sisteme gebruik. Hierdie metodes is gebaseer op die gebruik van ensieme en katalisators.



figuur 3.5 Fotometriesse vloeselle

3.2 Agtergrond en teorie van membraanskeidings

3.2.1 Inleiding

Skeidingstegnieke speel vandag 'n uiters belangrike rol in analitiese prosesse. Chromatografiese metodes het geleidelik ander skeidingsmetodes begin oorheers, veral as gevolg van hul vermoë om te diskrimineer teen steurende spesies. Met die oplewing in die laaste tyd, rakende die gebruik van ge-outomatiseerde kontinue-analiseerders, het die populariteit en die belangstelling in nie-chromatografiese skeidingstegnieke baie toegeneem. Hierdie oplewing is veral aangehelp deur die weglating van luggesegmenteerde metodes. Die intrinsieke en dinamiese aard van nie-chromatografiese kontinue-sisteme maak voorsiening vir die aanlynkoppeling van hierdie sisteme, nie net aan chromatograwe nie, maar ook aan elektroniese en optiese deteksiesisteme. Dit laat die outomatisasie en miniaturisering van die hele sisteem toe. [11]

3.2.2 Skeidingstegnieke

3.2.2.1 Teorie

'n Analitiese skeiding kan beskryf word as 'n proses wat die verdeling van 'n mengsel, in ten minste twee dele van verskillende samestelling, behels. Die doel van so 'n skeiding is die verryking van een van die fraksies met ten minste een komponent in verhouding tot die ander fraksies. Die uitvoering van so 'n skeiding behels dat twee komponente van mekaar verplaas moet word. Om hierdie rede moet vervoer (oordrag/verwydering), wat differensieel van aard is, by die skeidingsproses teenwoordig wees. [10]

Verplasing kan in twee dele verdeel word, naamlik:

- a. Vloei-verplasing - komponente word gedra volgens die medium waarin dit is.
- b. Relatiewe verplasing - dit is noodsaaklik vir skeiding aangesien dit verplasing deur die omliggende omgewing is.

Volgens Valcarcél *et. al.* [12] word die relatiewe verplasing van 'n komponent in 'n skeiding weergegee deur die vervoertempo (J) per eenheidsoppervlakte langs die x -as. (Kyk vergelyking 3.5)

$$J = -\left(\frac{cd\mu^*}{fdx}\right) - \left(\frac{RTdc}{fdx}\right) \quad (3.6)$$

c : konsentrasie

μ^* : chemiese potensiaal

f : wrywingskoeffisiënt

R : gaskonstante

T : absolute temperatuur

3.2.2.2 Klassifikasie

Analitiese skeidings tegnieke kan rofweg in drie kategorieë geklassifiseer word. Een van die kriteria is die tipe tussenvlak waarvoor massa-oordrag moet plaasvind (vastestoestand-vloeistof, vastestoestand-gas, vloeistof-vloeistof en gas-vloeistof). Die fase wat die monster bevat, word beskou as die eerste fase en die tweede fase kan dan *in situ* gegenereer word, (byvoorbeeld deur distillasie of presipitasie) of kan 'n eksterne fase wees (byvoorbeeld ekstraksie, chromatografie of dialise). Die stukrag van massa-oordrag kan bloot meganies wees (byvoorbeeld filtrasie en sentrifugasie), of fisies gebaseer op 'n toestandsverandering (byvoorbeeld distillasie), of oplosbaarheid (bv. vloeistof-vloeistof chromatografie), of op 'n elektriese veld gebaseer wees (byvoorbeeld elektroforese), of chemies wees (byvoorbeeld ionuitruiling). [10]

Alle analitiese skeidingsproesse word termodinamies, of kineties of deur beide prosesse beheer. Skeidingsproesse wat beheer word deur skeidings ewewigte wat twee fases insluit, kan beskryf word deur klassieke termodinamiese verhoudings soos die fasereël, skeidingskonstantes en die Gibbs en Clausius-Clapeyron vergelykings. Hierdie prosesse staan dan ook as die sogenaamde ewewig tegnieke bekend. By die sogenaamde kinetiese tegnieke is dit die tempo, waarteen verskillende komponente in die mengsel beweeg, wat die skeiding aanhelp. Hierdie tegnieke berus op die voorkoms van konsentrasie-, elektriesepotensiaal-, temperatuur- en

gravitasiegradiënte. In hierdie geval word die migrasie van die komponente ook deur die diffusiewette beheer. [11]

Ander klassifikasies van analitiese skeidingstegnieke is op die dinamiese of operasionele aspekte gebaseer. Die eerste onderskeid kan gemaak word op grond van óf die massa-oordrag plaasvind oor 'n goed gedefinieerde tussenvlak (oppervlak of tussenvlak tegnieke hoofsaaklik gebaseer op adsorpsie) óf in die geheel fase (byvoorbeeld vloeistof-vloeistofekstraksie onder skommeling, presipitasie of distillasie). [11]

Skeidingstegnieke kan in twee hoofgroepe ingedeel word op grond daarvan dat die vloeï van een of beide die fases die differensiële verplasing van die komponente in die mengsel voorthelp. [11] Die twee groepe is:

- a. Statiese skeidingstegnieke. Hulle word gekenmerk deur 'n afwesigheid van beweging van enige van die twee fases. Kinetika speel dan ook gewoonlik geen rol nie. In die meeste gevalle vind deteksie dan in isolasie (nie-gekoppeld) van die skeidingstegniek plaas.
- b. Dinamiese skeidingstegnieke. Hierdie tegnieke staan ook bekend as die kontinue-tegnieke, omdat hulle gekenmerk word deur die beweging van een of beide die fases wat die skeiding aanhelp.

Laastens kan die skeidingstegnieke geklassifiseer word as chromatografiese en nie-chromatografiese tegnieke. [11]

3.2.3 Nie-chromatografiese kontinue-skeidingstegnieke

Hierdie tipe skeidingstegniek word deur die teenwoordigheid van minstens een beweeglike fase gekarakteriseer. Die implementering van nie-chromatografiese tegnieke berus hoofsaaklik op die eienskappe, en die ontwikkeling van outomatiese kontinue-analiseerders, beide lug-gesegmenteerde en ongesegmenteerde variasies. 'n Kontinue-skeidingsstelsel kan aanleiding gee tot 'n verskeidenheid van tussenvlakke waarvoor massa-oordrag kan plaasvind. Daar kan dus gas-vloeistof-, vloeistof-vloeistof- en vloeistof-vastestofsisteme voorkom.

3.2.4 Membraanskeidings

Membraanskeidings kan geklassifiseer word as 'n nie-chromatografiese analitiese skeidingstegniek maar dit hoef nie noodwendig kontinuu te wees nie. [6] In tabel 3.3 word die verskillende tipes membraanskeidingstegnieke aangedui. Aangesien daar in hierdie projek slegs met dialise as 'n skeidingstegniek gewerk is, sal daar van nou af slegs op dialise self gekonsentreer word.

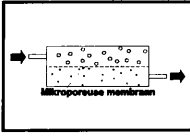
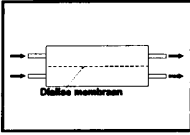
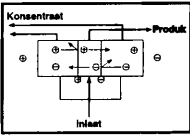
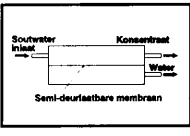
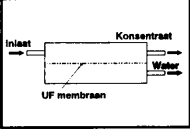
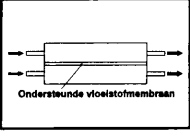
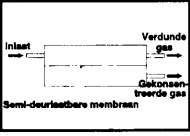
3.2.5 Beginsels en teorie van dialise

3.2.5.1 Basiese beginsels

Dialise kan gedefinieer word as die skeiding van klein molekules van makro-molekules met behulp van 'n semi-deurlaatbare membraan. [4]

Dialise is een van die skeidingstegnieke wat gebaseer is op versperringskeiding. [10][11] 'n Versperringskeiding is 'n skeidingstegniek waar daar twee fases (gewoonlik twee vloeistowwe maar kan ook gasse of 'n gas én 'n vloeistof wees [2]), wat deur middel van 'n fisiese versperring (membraan) van mekaar geskei is, voorkom. Die skeiding van verskillende

Tabel 3.3 Verskillende membraanskeidingstegnieke [8][10][13]

Proses	Konsep	Materiaal oorgedra	Dryfkrag	Materiaal agtergehou
Mikro-filtrasië		Water en opgeloste spesies	Drukgradiënt	Verskeie partikel groottes
Dialise		Ione en lae molekulêre massa stowwe	Konsentrasie-gradiënt	Opgeloste en gesuspendeerde materiaal
Elektro-dialise		Ione	Spannings-gradiënt	Nie-ioniese en makro molekules
Omgekeerde osmose		Water	Drukgradiënt	Gesuspendeerde en opgeloste materiaal
Ultra-filtrasië		Water en soute	Drukgradiënt	Biologiese-kollodiale- en makro-molekules
Ondersteunde vloeistof membraan		Ione	Konsentrasie-gradiënt	Sturende ione, opgeloste en gesuspendeerde materiale
Gasskeiding		Gasse en dampe	Drukgradiënt	Membraan ondeurlaatbare dampe en gasse

opgeloste stowwe, in die twee fases aan weerskante van die membraan, hang van die verskil in die tempo waarteen hierdie opgeloste stowwe oor die membraan gedra word af. In die geval van dialise is die fisiese skeiding tussen die twee fases 'n semi-deurlaatbare membraan. Die twee fases, aan weerskante van die membraan, is gewoonlik twee vloeistowwe wat nie

noodwendig nie-mengbaar moet wees nie. Omdat die membraan semi-deurlaatbaar is, word daar sekere spesies deurgelaat en ander terug gehou. Membraanskeiding is 'n baie handige proses aangesien dit op molekulêre vlak diskrimineer. Dialise verskil drasties van ander membraanskeidingstegnieke (versperringskeidingstegnieke) soos byvoorbeeld osmose (waar die oplosmiddel eerder as die opgeloste stof oor die membraan beweeg) of ultrafiltrasie, (waar die oplosmiddel onder druk deur 'n membraan geforseer word met die sodanige skeiding van die verskillende komponente). By dialise is die oordrag oor die membraan hoofsaaklik aan diffusie toe te skryf. Die dryfkrag vir hierdie proses is die konsentrasiegradiënt van die twee vloeistowwe aan weerskante van die membraan.

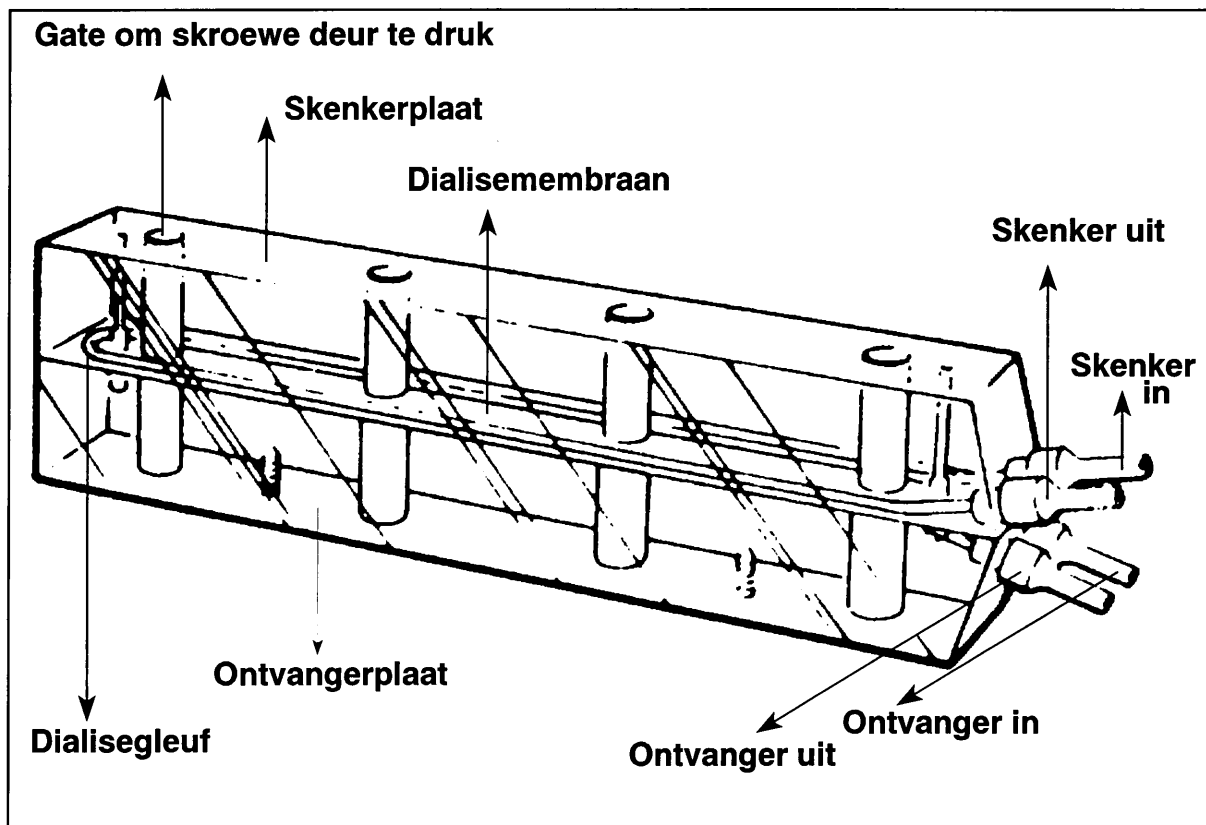
Dialise prosesse kan volgens twee kriteria geklassifiseer word.

- (i) Die eerste kriterium is die dinamiese toestand waarin die twee vloeistowwe tydens dialise verkeer. Indien beide die twee vloeistowwe staties verkeer, moet daar 'n massa-oordrag ewewig ingestel word. Indien egter enige van die twee vloeistowwe in beweging is, soos in 'n vloeisisteem, sal volledige ewewig nooit bereik word nie as gevolg van die dinamika van die sisteem. Om hierdie rede is tydsberekening 'n baie belangrike deel van die sisteem en moet dit baie noukeurig gekontroleer word.
- (ii) Die fisiese eienskappe van die membraan self kan 'n kriterium vir klassifikasie wees. In hierdie geval kan daar hoofsaaklik twee tipes membrane onderskei word, naamlik aktiewe en passiewe dialise. Eersgenoemde word ook Donnan dialise genoem. Aktiewe dialise behels die oordrag van ione met 'n bepaalde

lading oor 'n ioon-uitruilmembraan, terwyl passiewe dialise die diffusie van deeltjies met 'n bepaalde molekulêre massa oor 'n neutrale membraan behels.

In 'n kontinue-vloei/dialise of vloei-inspuit/dialise sisteem is daar gewoonlik twee strome, naamlik die skenkerstroom en die ontvangerstroom. (Kyk figuur 3.6) Hierdie twee strome verteenwoordig die twee vloeistowwe wat deur die membraan geskei word soos hierbo beskryf. Hierdie twee strome word dus op 'n stadium in die vloeisisteem slegs deur 'n semi-deurlaatbare membraan van mekaar geskei. Hierdie membraan tree dan nie net op as 'n skeiding tussen die twee strome om meganiese vermenging te voorkom nie, maar is ook semi-deurlaatbaar vir die diffusie van sommige opgeloste stowwe vanaf die skenkerstroom na die ontvangerstroom. Die sisteem is dus so ontwerp dat die analiet deur die membraan beweeg en die steurende spesies agtergelaat word. Die skenkerstroom kan, indien nodig, analities aangewend word. Daar moet egter in ag geneem word dat al die voordele van dialise, byvoorbeeld die verwydering van steurende spesies, verlore sal wees by die analise van die skenkerstroom. Dit is onmoontlik 'n steurende spesie in sy totaliteit na die ontvangerstroom te laat dialiseer. [8]

'n Definisie van dialise in 'n vloeisisteem, na aanleiding van bogenoemde gegewens, sal as volg lui: *Dit is 'n skeidingsproses wat afhanklik is van die diffusionele vervoer van opgeloste stowwe, met verskillende ionise lading of molekulêre massa, oor 'n semi-deurlaatbare membraan wat twee oplossings in 'n vloeisisteem van mekaar skei, en die proses is tyd afhanklik.* In vloei-inspuitanalise is die vervoer van die monsterprop in die skenkerstroom afhanklik van die vloeitempo, en het die monsterprop 'n konsentrasie-tydprofiel wat deur konvektiewe- en diffusionele-vervoer (kyk paragraaf 3.1.3, figuur 3.2 en vergelyking 3.2)



Figuur 3.6 Skematiese voorstelling van 'n dialise-eenheid soos wat dit in 'n VIA-sisteem gebruik sal word.

beheer word.

Die effektiwiteit van dialise as skeidingstegniek word deur faktore soos die diffusietempo van die opgeloste stowwe deur die membraan, die stagnante film van vloeistowwe aan beide kante van die membraan en die eienskappe van die membraan self beheer. Daar is gevind dat die persentasie dialise, met 'n dialiseerder aanlyn gekoppel in 'n vloeisisteem, oor die algemeen kleiner is as 15% maar selde kleiner as 1%. [14] Volgens Van Staden [15] wissel hierdie persentasie gewoonlik tussen 0 en 7%. Die tempo waarteen die opgeloste stof deur die membraan diffundeer word beskryf deur Fick se diffusiewette (kyk vergelyking 3.7 en 3.8). Hierdie wette is streng toepaslik indien die poriedeursnee in die membraan baie groter is as die deursnee van die opgeloste stof wat moet deur diffundeer. Twee vergelykings kan hiervoor gegee word:

$$\left(\frac{dm}{dt}\right) = -DA\left(\frac{dc}{dt}\right) \quad (3.7)$$

(uit [14])

dm/dt : massavloeidiffusietempo

D : diffusiekoëffisiënt van die opgeloste stowwe deur die membraan diffundeer

A : membraanoppervlakte

dc/dt : konsentrasiegradiënt

of

$$J = \frac{\partial Q}{\partial t} = -DA_p\left(\frac{\partial c}{\partial x_p}\right) \quad (3.8)$$

(uit [11])

J : massatransport oor die membraan;

Q : die kwantiteit van die opgeloste stof wat diffundeer in tyd t deur X_p , die gemiddelde lengte van die porieë;

A_p : die oppervlak beskikbaar vir diffusie;

D : die massa-oordragdiffusiekoëffisiënt deur die membraan en die stagnante films;

c : die konsentrasiegradiënt van die opgeloste stowwe. Die negatiewe teken dui aan dat die opgeloste stof diffundeer in die rigting van die laagste konsentrasie.

Die aard van die membraan, dit is die tipe membraan, membraan oppervlakte, membraanporositeit en membraandikte, bepaal die eienskappe van die oordrag oor die membraan. Verder bepaal dit ook die tipe ione of molekules wat oor die membraan vervoer gaan word. [10][11] Die verhouding tussen die deursnee-grootte van die porieë in die

membraan en die deursnee van die molekule is belangrik vir die opgeloste stof. Die verhouding tussen dié twee word deur die volgende vergelyking gegee:

$$A_p = A_o \left(1 - \frac{a}{r}\right)^2 \quad (3.9)$$

A_p : die totale effektiewe deursnee-area van die porieë beskikbaar vir diffusie;

A_o : deursnee-area van die porie;

r : radius van die molekule;

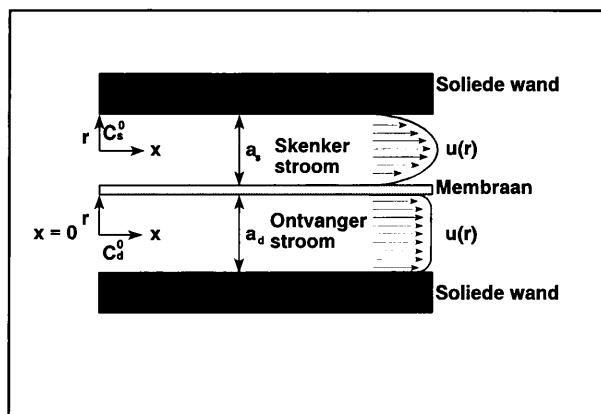
a : radius van die porie.

Aanduidings is dat poriedeursnee ten minste dubbeld dié van die molekule se deursnee moet wees voordat die molekule sal deurbeweeg. [10]

Sommige monsters kan ook die membraan bevuil. Hierdie bevuilding kan 'n negatiewe invloed gee op die diffusietempo van sekere spesies deur die membraan, en dit sal die proses waar dit deur die porie beweeg vertraag - wat kineties die tempo bepalende stap van die dialise proses is. Vloei-inspuitanalise het gewoonlik nie hierdie probleem nie, aangesien daar slegs klein hoeveelhede monster ingespuut word.

3.2.5.2 Teoretiese agtergrond

Beskou die skematiese voorstelling van 'n analitiese parallelplaatdialiseerder met twee kanale van oneindige wydte. (figuur 3.7)



Figuur 3.7 Analitiese parallelplaat dialiseerder

Die monsterprop kom die dialiseerder vanaf die linkerkant in die boonste kanaal (skenkerkanaal) binne. Die analiet word oor die membraan gedra na die onderste kanaal (ontvangerkanaal). Vervoer het dus in die x -rigting volgens molekulêre diffusie plaasgevind, soos deur Fick se wet beskryf (vergelykings 3.6 en 3.7). Die vloei van die vloeistof is in die y -rigting en, aangesien die wydte oneindig is, is daar is geen vervoer in die z -rigting nie. [16]

In 'n VIA-dialiseerdersisteen word die resulterende konsentrasie-tydprofiel deur vergelyking 3.2 (paragraaf 3.1.3) gegee. In 'n aanlyn gekoppelde dialiseerder in 'n VIA-sisteen met laminêre vloeikondisies, word aangeneem dat die dialiseerder só na aan die inspuitsklep is dat dispersie weglaatbaar is en dat die monsterprop 'n reghoekige vorm het die oomblik as dit die skenkerkanaal in die dialiseerder binnekom. Dit kan egter nooit in ware VIA-sisteme verkry word nie.

Die skenkervloeistof gaan die dialiseerder binne waar $x = 0$, met 'n ten volle ontwikkelde konsentrasie-tyd profiel, en die konsentrasies in die skenker- en ontvangerstrome

onderskeidelik C_s^0 en C_d^0 . Die konvektiewe diffusievergelyking vir die onbeweeglike toestand is nou:

$$u_j(r) \frac{\partial C_j}{\partial x} = D_j \frac{\partial^2 C_j}{\partial r^2} \quad (3.10)$$

j : voetskrif wat gebruik word in die plek van s of d as die skenker- en ontvangerkanaal se vergelykings dieselfde vorm het;

D_j : diffusiekoëffisiënt van die opgeloste stowwe wat deur die membraan beweeg;

C_j : konsentrasie by 'n spesifieke punt in die kanaal;

x : afstand langs die buis-aksis;

r : radius afstand vanaf die middelpunt van die buis;

u : lineêre vloeisnelheid.

Die grenskondisies vir beide die strome is:

$C_j = C_i$ by $x = 0$ vir $0 \leq r \leq a$ en

$$\frac{\partial C}{\partial r} = 0$$

by

$$r = -\frac{a_i}{2}$$

Uit die laaste grense wat gestel is, kan daar afgelei word dat die soliede wande ondeurlaatbaar is. Die deurlaatbaarheid van die membraan is eweredig aan die konsentrasie verskil aan beide kante van die membraan en word dit deur die volgende vergelyking gegee:

$$\pm D_j \left(\frac{\partial C_i}{\partial r} \right)_{(r=a_j, x)} = P [C_{ws(r=a_s, x)} - C_{wd(r=a_d, x)}] \quad (3.11)$$

P : deurlaatbaarheid in $m \cdot s^{-1}$;

C_{ws} : konsentrasie van die monsterprop op die membraanoppervlakte (skenkerkant);

C_{wd} : konsentrasie van die dialisaat op die membraanoppervlakte.

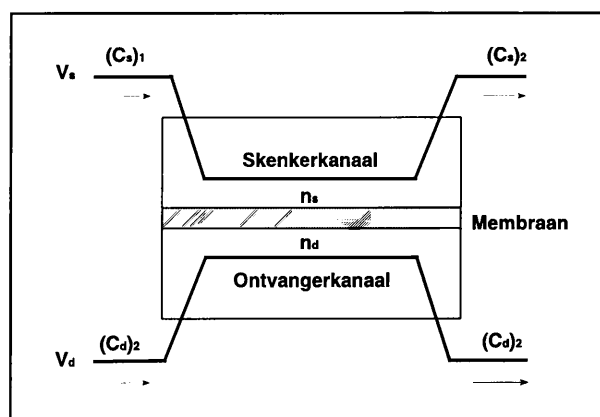
Bernhardsson *et. al.* [15], het die wiskundige behandeling in twee dele verdeel, naamlik die propvloei en die paraboliese-vloei van die monster. Die oplossings, vir die propvloei in beide die kanale is verkry deur 'n Fourier transformasie met die eiewaardes en die eiefunksies te doen, wat dan uiteindelik tot die Sturm-Liouvillesistiem lei. Die snelheidsprofiel vir die twee dimensionele laminêre vloei word deur die volgende vergelyking gegee:

$$u_i(r) = u_{i_{\max}} \left[1 - \left(\frac{2r_i}{a_i} \right)^2 \right] \quad (3.12)$$

Die laaste drie vergelykings en die verwante grensvergelykings vorm 'n sisteem wat numeries opgelos kan word deur elke kanaal in oneindige aantal skywe te onderverdeel.

Die volgende gedeelte van die teorie van dialiseerders handel oor die effektiwiteit van die dialiseerder self. [11] Kyk figuur 3.7 vir die skematiese uitleg van 'n dialiseerder gekoppel aan 'n VIA-sisteem. Die analiet met 'n konsentrasie van $(C_s)_1$ gaan die dialiseerder, teen 'n vloeitempo V_s , aan die bokant binne. Dit gaan weer die dialiseerder uit teen dieselfde vloeitempo, maar met 'n laer konsentrasie $(C_s)_2$. Netso is ook die konsentrasie van die

ontvangerstroom aan die onderkant in die begin $(C_d)_1$ en aan die einde $(C_d)_2$ met die vloeitempo V_d .



Figuur 3.8 Skematiese voorstelling van 'n dialiseerder in 'n VIA-sisteem.

Die volgende verduideliking is uit [8] verkry. Vir die algehele dialiseproses is die hoeveelheid analiet, n_s (aantal mol), wat dialiseer vanaf die skenkerstroom, gelyk aan die hoeveelheid analiet wat ontvang word in die ontvangerstroom, n_d . (Dit is op voorwaarde dat geen analiet in die membraanporië agter bly nie.) Daar kan dus aangeneem word dat:

$$n_s = n_d \quad (3.13)$$

Uit vergelyking 3.12 volg dat die tempo van analiet-oordrag (J) in 'n dinamiese dialiseerder gegee word deur:

$$\begin{aligned} J &= n_s &= n_d \\ &= v_s [(C_s)_1 - (C_s)_2] &= v_d [(C_d)_2 - (C_d)_1] \\ &= v_s \Delta C_s &= v_d \Delta C_d \end{aligned} \quad (3.14)$$

Om die effek van die konsentrasiegradiënt op massa-oordrag te ondersoek, kan die massa-oordragdiffusiekoëffisiënt (D) in vergelyking 3.7 vervang word deur 'n saamgestelde massa-oordragdiffusiekoëffisiënt (D_A) in die volgende vergelyking:

$$J = A_p \left(\frac{D_A}{x_p} \right) \Delta C \quad (3.15)$$

In hierdie geval is

$$\begin{aligned} \Delta C &= \Delta C_s + \Delta C_d \\ &= [(C_s)_1 - (C_s)_2] + [(C_d)_2 - (C_d)_1] \\ &= [(C_s)_1 - (C_d)_1] + [(C_d)_2 - (C_s)_2]. \end{aligned}$$

D_A bevat nou al die volgende fisiese parameters, naamlik membraanoppervlakte (area), membraanoppervlak (buitekant van die membraan), membraanporositeit, dikte van die membraan, temperatuur, elektriese effekte, druk, vloeitempo, geometrie, viskositeit, en die styl van die membraan. Vergelyking 3.14 word dus nou die vloeitempovergelyking. ΔC kan gesien word as die gemiddelde analietkonsentrasie betrokke by die ontwikkeling van die konsentrasiegradiënt, tussen die skenker- en die ontvangerstrome, oor die membraan vir die hele padlengte van die kanale in die dialiseerder.

Vergelyking 3.14 kan geskryf word as:

$$J = k A_p D_A \Delta C \quad (3.16)$$

k : tempo-konstante wat 'n funksie is van die membraaneienskappe

A_p : totale dwarsdeursnee-area van die porieë in die membraan.

Indien k egter so gedefinieer word om A_p ook in te sluit, kan vergelyking 3.15 geskryf word as:

$$J = KD_A \Delta C \quad (3.17)$$

Die effektiwiteit van 'n dialiseerder kan uitgedruk word in terme van die saamgestelde massa-oordragdiffusiekoëffisiënt, D_A , as die verhouding tussen die tempo van oordrag en die konsentrasiegradiënt:

$$D_A = \frac{J}{[(C_s)_1 - (C_d)_1] + [(C_d)_2 - (C_s)_2]} \quad (3.18)$$

Die omgekeerde proses, naamlik die oordrag vanaf die ontvanger- na die skenkerstroom is weglaatbaar. Daarom kan vergelyking 3.18 geskryf word as:

$$D_A = \frac{J}{[(C_s)_1 - (C_d)_1]} \quad (3.19)$$

By die ingang van die dialiseerder is die analietkonsentrasie by die skenkersroom, $(C_s^0)_1$ en by die ontvangerstroom is die konsentrasie $(C_d^0)_1 = 0$. Daarom kan vergelyking 3.19 geskryf word as:

$$D_A = \frac{J}{(C_s^0)_1} \quad (3.20)$$

Nou het D_A dieselfde dimensies (eenhede) as die vloeitempo. Dit is ook moontlik om die effektiwiteit van die dialiseproses in terme van die dimensielose parameter D_A/v_s uit te druk.

Na 'n aantal verwerkings kan dit dan weergegee word in die volgende vergelyking:

$$\frac{D_A}{v_s} = \frac{[(C_s)_1 - (C_s)_2]}{(C_s)_1} \quad (3.21)$$

In vergelyking 3.20 word die effektiwiteit van dialise dus weergegee in terme van 'n absolute waarde. Die massa-oordrageffektiwiteit kan uitgedruk word deur gebruik te maak van persentasie dialise, waar die dialisefaktor vermenigvuldig word met 100.

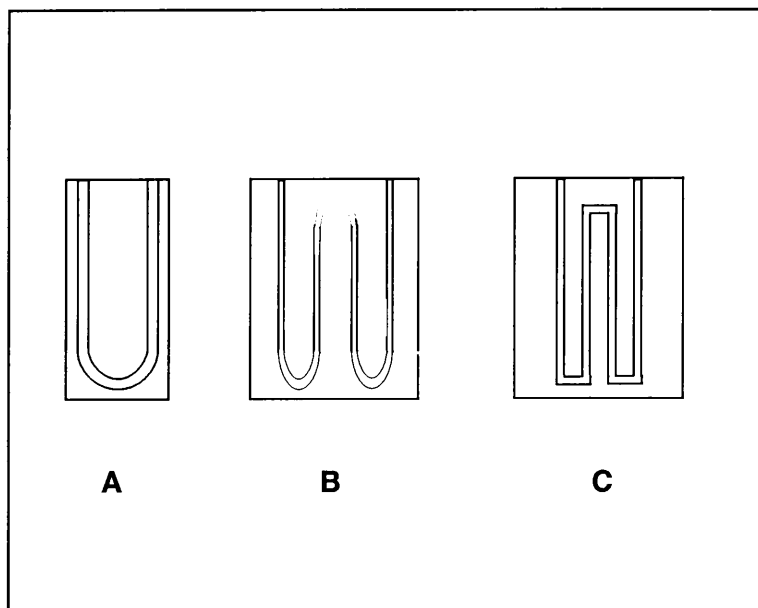
$$\%dialise = \frac{C_d}{C_s} \times 100 \quad (3.22)$$

3.2.6 Basiese komponente van 'n dialiseerder

Dialise-eenhede is in verskeie vorms beskikbaar. Die behoefte bepaal die vorm. [11] Twee klasse dialiseerders kan onderskei word, naamlik: [11]

- (i) Konvensionele dialiseerders. Hierdie dialiseerders is gewoonlik van die toebroodjietipe en word gewoonlik van Perspex, of enige ander chemies inerte sowel as meganies sterk materiaal, vervaardig. [11] (Kyk figuur 3.6.) Die dialiseerder bestaan uit van twee eenhede wat spieëlbeelde van mekaar is. In beide hierdie eenhede is daar 'n groefie gesny wat, as die twee eenhede op mekaar gepas gaan word, (die groefies) 'n buis sal vorm. Indien daar 'n dialisemembraan tussen hierdie eenhede geplaas word, sal die groefies tot gevolg hê dat daar twee buisies reg bo-op mekaar vorm met die dialisemembraan wat die twee buisies van mekaar skei. (Kyk figuur 3.9 en

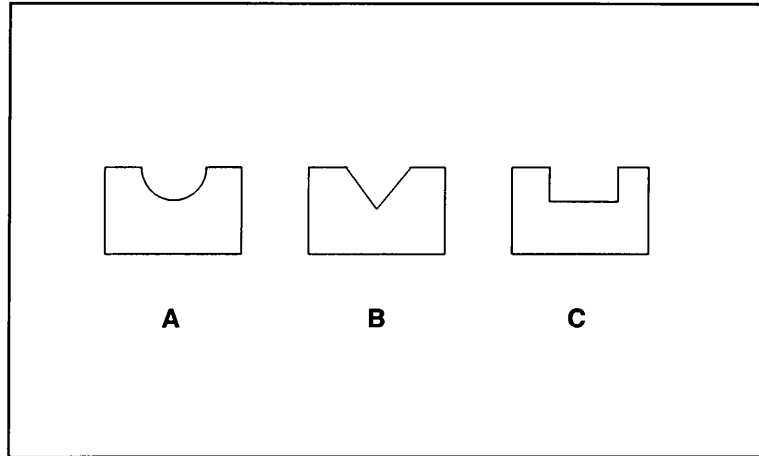
3.10.) In figuur 3.8 kan die bo-aansig van een van die eenhede van die dialiseerder gesien word. Die kanale kan reghoekig of sirkelvormig aan mekaar verbind wees. Die effektiwiteit van dialiseerder A na B en C neem ongeveer twee keer toe maar, tesame hiermee neem die dispersie ook toe. Die hoeveelheid kere wat die kanaal deur die dialiseerder kronkel is onbeperk - daar moet egter net in gedagte gehou word dat die dispersie gaan toeneem met die toename in lengte van die buis in die dialiseerder. (Figuur 3.6 stem ooreen met die dialiseerder A in figuur 3.9.)



Figuur 3.9 Verskillende konvensionele dialiseerders.

In figuur 3.10 kan die verskillende tipes kanale gesien word. Hulle is gewoonlik tussen 0.2 tot 1.0 mm diep en 0.5 tot 1.5 mm in breed.

- (ii) Spesiaal ontwikkelde dialiseerders. (Nie vir die gebruik in VIA nie)



Figuur 3.10 Dwarsdeursnee deur die tipe kanale wat gebruik word.

3.2.7 Faktore wat dialise effektiwiteit beïnvloed

Die massa-oordrageffektiwiteit oor die membraan word gewoonlik met behulp van vergelyking 3.21 bepaal. Twee faktore wat die grootste bydrae tot die effektiwiteit van dialise lewer, is membraan veranderlikes en eksperimentele parameters.

3.2.7.1 Membraan veranderlikes [13][17][18]

- (i) Membraan oppervlakte of die tipe membraan. Die chemiese samestelling van die membraan asook die materiaalsamestelling is baie belangrik vir die doel waarvoor die membraan aangewend gaan word, aangesien dit die persentasie dialise gaan beïnvloed.
- (ii) Membraanpadlengte. Die massa-oordrageffektiwiteit, in 'n dialiseerder eenheid wat 'n groef van 0.5 by 0.5 mm het, neem toe met 'n toename in die padlengte van 70 - 300 mm. Met padlengtes langer as 300 mm word die vloei van die VIA-sisteem onreëlmatig as gevolg van differensiële druk verskille.

- (iii) Membraanporositeit. Vir homogene membrane wat in dialise gebruik word, is die massa-oordrag oor die membraan net deur middel van molekulêre diffusie, en speel die porie grootte dus 'n belangrike rol by die diffusie van spesies oor die membraan. Die tendens is dat massa-oordrageffektiwiteit toeneem met die toename in porie grootte.
- (iv) Membraandikte. Massa-oordrageffektiwiteit neem af met die toename in die membraandikte. Dit bevestig die aanname dat die diffusie binne die membraan die tempo bepalende stap tydens dialise is.
- (v) Membraangeometrie. Die grootte van die membraan se kontakoppervlak met die monster het 'n positiewe invloed op die effektiwiteit van massa-oordrag.

3.2.7.2 Eksperimentele parameters

- (i) Vloeirigting. Dit handel oor die saam- en die teenvloei, van onderskeidelik die skenker- en die ontvangerstroom, in die dialiseerder. Daar is oor die algemeen aanvaar dat teenvloei van die skenker- en die ontvangerstroom nie dieselfde kwaliteit resultate lewer nie. Daar word beweer dat, in die geval van teenvloei, kruis-kontaminasie tussen die verskillende monsters baie maklik plaasvind. Daar word ook genoem dat die herhaalbaarheid van die analise nie so goed is nie. [11]
- (ii) Vloeitempo. Dit word aanbeveel dat die vloeitempo's vir die skenker- en die ontvangerstroom dieselde moet wees. Die massa-oordrageffektiwiteit neem

af met 'n verhoging in beide die skenker- en onvangestrome se vloeitempo's. Dit bewys dat die massavloeidiffusietempo, in vergelyking 3.6, toeneem as gevolg van die langer kontaktyd van die analiet met die membraanoppervlakte. Daar is 'n groter variasie en dus 'n laer presisie met laer vloeitempo's.

- (iii) Analietkonsentrasie. Dialise is meer effektief vir laer analietkonsentrasies as vir die hoër konsentrasies. Dit geld egter net vir konsentrasies van hoër as 5000 mg.dm^{-3} .
- (iv) Monstervolumes. Daar is eksperimenteel gevind dat monstervolume geen invloed op die persentasie dialise het nie.
- (v) Samestelling van die skenker- en ontvangerstrome. Die teenwoordigheid van steurende stowwe in die analiet het wel 'n invloed op die tempo van dialise.
- (vi) Temperatuur. Massa-oordrageffektiwiteit mag beïnvloed word deur temperatuur veranderinge en word dus aanbeveel dat die temperatuur, tydens die analise van 'n reeks monsters, konstant gehou moet word.

3.3 Verwysings

1. Růžicka J, Hansen E H (1975) **Anal. Chim. Acta. 78: 145.**
2. Valcarcel M, Luque de Castro M D (1987) **Flow injection analysis. Principles and Applications.** Ellis Horwood. Chichester.
3. Snyder L, Levine J, Stoy R, Conetta A (1976) **Anal. Chem. 48: 942A.**
4. Ranger CB (1981) **Anal. Chem. 53: 20A.**
5. Marshall G (1994) **Flow-injection Analysis - From Laboratory to Process.** Lesing aangebied by VIA skool gehou op 10 Februarie 1994 by Indaba Hotel, RSA.
6. Steward KK (1981) **Talanta 28: 789.**
7. Painton CC, Mottola HA (1981) **Anal. Chem. 53: 1713.**
8. Persoonlike gesprek met Prof. J F van Staden. Universiteit van Pretoria, Departement Chemie.
9. Skoog DA, West DM, Holler FJ (1992) **Fundamentals of Analytical Chemistry. Sesde uitgawe.** Saunders College Publishing.
10. Miller JC, Miller JN (1988) **Statistics for Analytical Chemistry, Second Edition.** Ellis Horwood limited.
11. Lonsdale H K (1982) **J. Membr. Sci. 10: 81.**
12. Valcárcel M, Luque de Castro M D (1991) **Non-chromatographic continuous separation techniques** The Royal Society of Chemistry.
13. Barnes DE (1994) **FIA in the research environment.** Lesing aangebied by VIA-skool gehou op 10 Februarie 1994 by Indaba Hotel RSA.
14. Fang Z (1993) **Flow Injection Separation and Preconcentration** VCH Verlagsgesellschaft mbH.
15. Van Staden JF (1993) **LRA 6: 29.**
16. Bernhardsson B, Maartins E, Johansson G (1985) **Anal Chim. Acta. 167: 111.**
17. Van Staden JF, Van Rensburg A (1990) **Analyst. 115: 1049.**
18. **Gradco catalogue** (1974, 1985) Gradco Internatioinal Ltd. , Winchester. England: 47.

Hoofstuk 4

Bepalingsmetodes

4.1 Inleiding

Hierdie projek handel oor die eienskappe van die dialisemembraan en die werking daarvan in 'n VIA sisteem. Koper (Cu^{2+}) en sink (Zn^{2+}) is as analiete gekies. In die literatuurstudie is daar verskeie metodes verkry waarmee hierdie twee elemente in 'n VIA-sisteem bepaal kon word. Die volgende apparaat was beskikbaar:

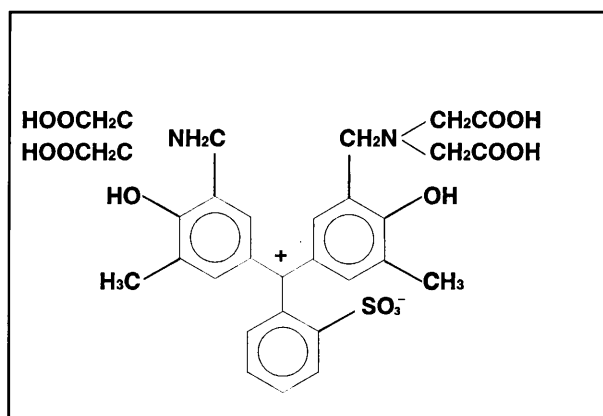
- Spektrofotometer;
- Vlamatoomabsorpsiespektrofotometer. (AAS)

Die metode wat in die geval van die AAS gebruik is, was eenvoudig aangesien daar geen reaksie van die metale verwag word, voordat dit na die detektor vervoer word nie. In die geval van die spektrofotometer was dit egter moeiliker gewees om die regte metode te kry.

Die volgende metodes is vergelyk:

- i. Die gebruik van xilenoloranje.[1][2][3] Tussen die verskillende verwysings was daar geringe verskille betreffende die werking van elke sisteem. In al drie die gevalle is xilenoloranje indikator gebruik om 'n kompleks te vorm met die metaalioon, waarna dit spektrofotometries bepaal is. In al die gevalle is 'n asetaatbuffersisteem gebruik by 'n pH tussen 5,2 en 5,9. Sagara *et.al.* [1] het xilenoloranje slegs as indikator in 'n VIA-titrasie gebruik. Die metode was nie geskik vir die doel waarvoor dit verlang word nie. Barnes en Jones [2] en Kuroda en Mochizuki [3] het xilenoloranje gebruik om 'n kleurreaksie met die metaal te gee waarna die kleurintensiteit van die produk spektrofotometries bepaal is. Beide hierdie

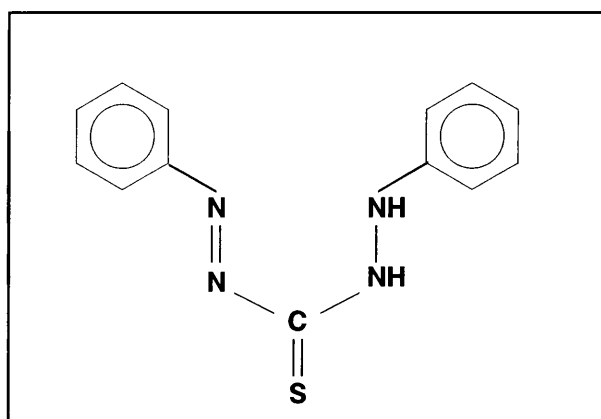
metodes kan dus gebruik word. In die metode deur Barnes *et.al.* is die sinkstandaarde van die monsters vanuit 'n sinkout berei. Die totale vloeitempo in hierdie sisteem was $3.0 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Sinkkonsentrasies tussen 10 en $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ is in hierdie metode bepaal. In die metode wat deur Kuroda *et.al* beskryf is, is die metaalstandaarde berei deur die metaal self in 'n sterk suur op te los. Die totale vloeitempo in hierdie sisteem het gewissel tussen 8.0 en $12.0 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. In hierdie metode is nie net die bepaling van sink beskryf nie maar ook dié van koper. Koruda *et.al.* gee ook 'n beskrywing van hoe daar vir ander steurende spesies by die bepaling van sink gemaskeer moet word. In figuur 4.1 word die struktuur van xilenoloranje gegee. [4]



Figuur 4.1 Struktuur van xilenoloranje.

ii. Ditosoon (*difenieltiokarbasoon*) Hierdie metode is deur Memon *et.al.* [5] beskryf. 'n Asetaatbuffer met 'n pH van 5.4 word in hierdie sisteem gebruik. Natriumtiosulfaat word by die buffer gevoeg om die invloed van steurende spesies by die bepaling van sink uit te skakel. Die totale vloeitempo in hierdie sisteem was $2.30 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. 'n Probleem wat met ditosoon voorsien word, is dat dit in 'n organiese oplosmiddel opgelos moet word. Dit kan probleme veroorsaak aangesien in die VIA-

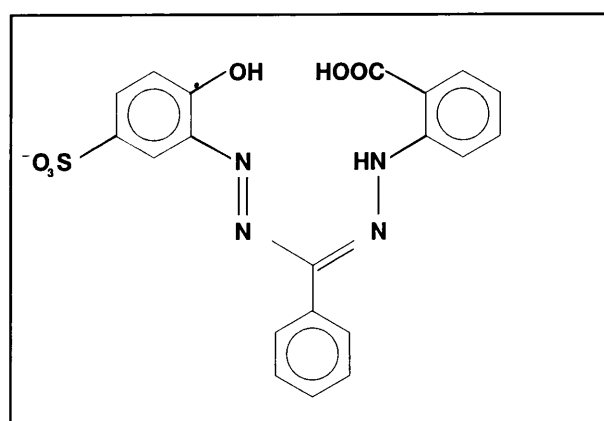
sisteem, in die huidige ondersoek, aan 'n dialiseerder gekoppel moet word en die teenwoordigheid van die organiese oplosmiddel die dialise-effektiwiteit nadelig kan beïnvloed. Die hele VIA-sisteem se werking en reagentse is meer kompleks as in die geval van die metodes beskryf in (i). Die lineêre konsentrasiegebied wat met hierdie metode verkry is, is 0 tot 10 mg.dm^{-3} . In figuur 4.2 kan die struktuur van ditiosoon gesien word. [4]



Figuur 4.2 Struktuur van ditiosoon.

iii. Zincon (*o*-{2-[α -(2-Hidroksie-5-sulfofenielaso)-bensilideen]-hidrasino}-bensoësuur) Ferreira *et.al.* [6] en Kouparis *et.al.* [7] het die metode beskryf om met behulp van zinkon, as chromogeniese reagens, sink spektrofotometries te bepaal. Volgens hierdie metode is die RSA, in die konsentrasiegebied van 1 tot 10 mg.dm^{-3} , 1%. Indien daar in die VIA-sisteem ook van prekonsentrasie, met behulp van 'n ionuitruilhars, gebruik gemaak word, kan die RSA-waarde tot so laag as 0.02 % daal in 'n konsentrasiegebied van 0 tot 2.00 mg.dm^{-3} . Hierdie metodes sou wel handig te pas kom in die navorsing wat in hoofstuk 8 gedoen is. Die probleem wat egter voorsien word met die gebruik van hierdie navorsingsmetode, waar dialise betrokke is, is dat die konsentrasiegebied wat met hierdie metode gedek word nie wyd

genoeg is nie. Hierdie metode is ideaal vir die bepaling van sink en koper in die teenwoordigheid van sianied wat kan steur. Koupparis *et.al.* [7] beskryf 'n metode hoe om sinkmonsters vir sianied te maskeer. Beide Ferreira *et.al.* en Koupparis *et.al.* gebruik 'n boraatbuffer by 'n pH van 9,0. Volgens Bishop [4] kan zinkon net vir die bepaling van sink gebruik word. Ferreira *et.al.* en Koupparis *et.al.* [6, 7], voorsien dat met hierdie metode daar baie steurings van ander metale ondervind kan word. In figuur 4.3 word die struktuur van zinkon weergegee.



Figuur 4.3 Struktuur van zinkon

iv. Die gebruik van 4-(2-piridielaso)resorsinol [8] as chromogeniese reagens. Hierdie metode was gebruik vir die bepaling van gemengde metaalmonsters. Hierdie metode behels die gebruik van sonemonsterneming vir die bepaling van die metaalmonsters.

v. Die gebruik van metallo-ensieme in die bepaling van sink.[9] In hierdie geval is daar van geïmmobiliseerde karboon-anhidrase gebruik gemaak. Daar is gevind dat kobalt in hierdie geval steur. 'n Linieêre kalibrasiekromme is met hierdie metode, vir sinkkonsentrasies tussen 1×10^{-8} en 4×10^{-7} mg.dm^{-3} , verkry. Hierdie metode kan aanbeveel word vir die bepaling van lae konsentrasies sink.

4.2 Die keuse van kleurreagens vir die bepaling van sink en koper

Daar moes 'n keuse tussen vyf verskillende kleurreagense gemaak word. By die keuse van die korrekte kleurreagens, is die volgende aspekte in gedagte gehou.

- (i) Die grootste oorweging was die verenigbaarheid van die kleurreagens met 'n dialise-eenheid. Dit is veral ditiosoon wat in hierdie geval uitgesonder kan word. Soos reeds vermeld, moet ditiosoon in 'n organiese oplosmiddel berei word. Die gebruik van hierdie oplosmiddel, afhangende van hoe die VIA-sisteem opgestel gaan word, mag moontlike steurnis by dialise-effektiwiteit veroorsaak.
- (ii) Die metode, soos deur die spesifieke kleurreagens voorgeskryf, moet die analiet oor 'n groot konsentrasie-interval kan bepaal. Daar moet dus 'n wye gebied van reglynigheid, tussen die konsentrasie en die sein gelewer, bestaan. Die reglynige gebied moet by so 'n konsentrasie-interval voorkom waar dit moontlik is om die dialisaat te analiseer. Die gebruik van zinkon, alhoewel die deteksiegebied baie laag is, word nie aanbeveel nie aangesien die konsentrasie-interval waar deteksie voorkom, nie wyd genoeg is nie. Dieselfde probleem geld ook vir die metallo-ensieme.
- (iii) Die sisteem wat gekies word moet maklik opgestel en gebruik kan word. Die reagense moet maklik hanteerbaar wees. Daar moet in die navorsing, wat gedoen gaan word, nie uitermate baie aandag aan die deteksiesisteem gegee word nie, maar aandag moet eerder aan die dialise-sisteem bestee word.

Alles in ag genome is besluit om xilenoloranje as kleurreagens vir die navorsing te gebruik.

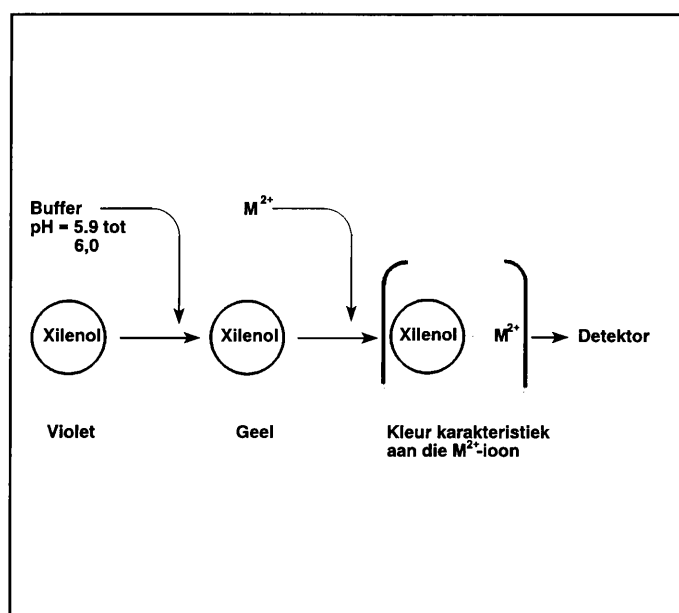
4.3 Die werking en die gebruik van xilenoloranje in 'n VIA-sisteem.

Xilenoloranje is wateroplosbaar en kan dus baie goed in 'n watersisteem gebruik word. Om xilenoloranje te gebruik as kleurreagens is slegs 'n klein hoeveelheid nodig.[2] Ander fisiese data word in tabel 4.1 verskaf.

Tabel 4.1 Fisiese konstantes van xilenoloranje.
[4]

Dissosiasië	H ₆ X	H ₅ X	H ₄ X	H ₃ X	H ₂ X	HX	X
pK	-1.2	2.6	3.2	6.4	10.4	12.3	
Kleur		geel	geel	geel	rooi	rooi	

Die kleurverandering van xilenoloranje, in die VIA-sisteem, kan aan die hand van figuur 4.5 verduidelik word.



Figuur 4.4 Kleurverandering van xilenoloranje met die byvoeging van buffer en metaal ione.

As xilenoloranje in water opgemaak word, is die kleur daarvan violet. Sodra daar 'n buffer (pH = 5.9 - 6.0) bygevoeg word, verander die kleur na geel. Met die metaalioon word daar

'n kompleks gevorm waarvan die kleur rooi tot pers is, afhangende van die tipe metaalioon wat gebruik word.[4] Die kleurintensiteit is ook afhanklik van die hoeveelheid metaalione wat bygevoeg word. Dit kan spektrofotometries bepaal word.

4.4 Eksperimenteel

4.4.1 Reagense en apparaat

Analitiese graad reagense en dubbeld gedistilleerde water is deurgaans gebruik.

i. Reagense. Die volgende reagense is vir die spektrofotometer met die kleurreaksie gebruik.

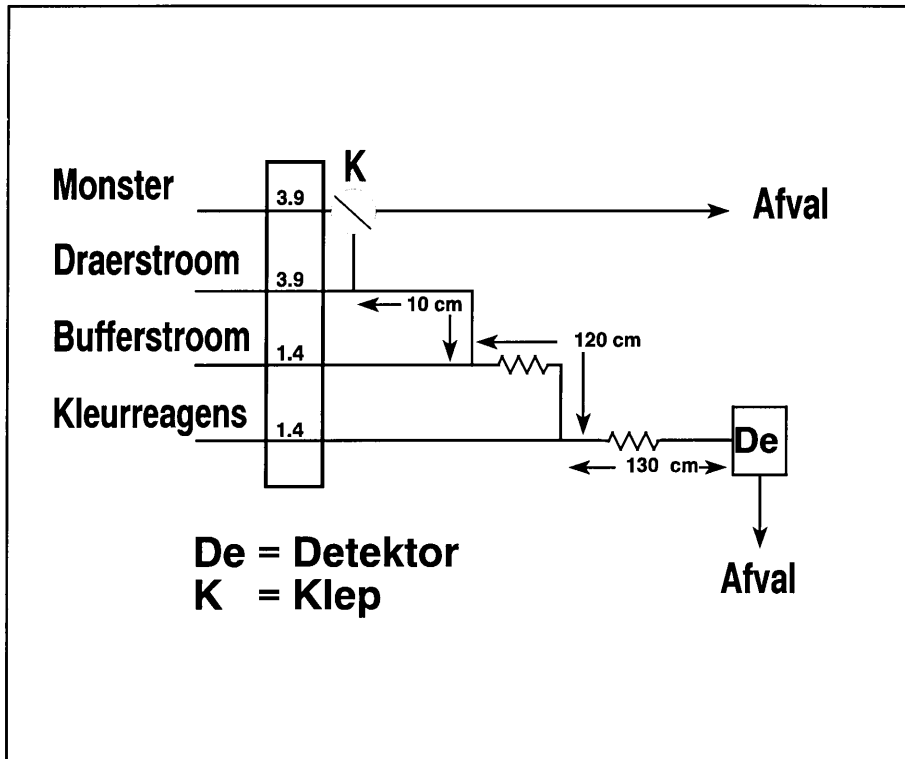
Bufferoplossing. Die asetaatbuffer is berei deur 136 g natriumasetaat (CH_3COONa) af te weeg en na 1000 cm^3 op te maak. Die pH is met behulp van gekonsentreerde asynsuur (99.7% CH_3COOH) op 5.9 ingestel.

Stamoplossing. Sinkstamoplossing: 'n Sinkstamoplossing van $2000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ is berei deur 17.588 g sinksulfaat heptahidraat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$) presies af te weeg en na 2000 cm^3 op te maak in 'n volumetriese fles.

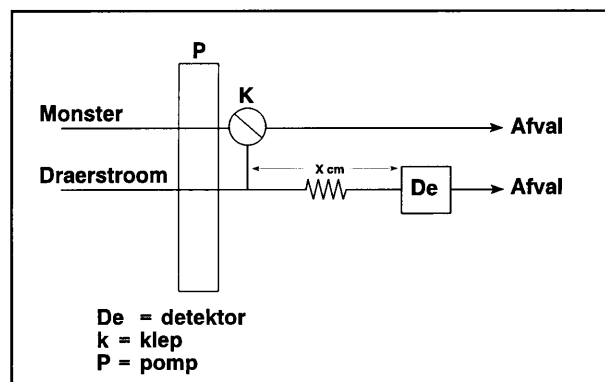
Koperstamoplossing. 'n Koperstamoplossing van $2000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ is berei 15.717 g kopersulfaat-pentahidraat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) presies af te weeg en na 2000 cm^3 in 'n volumetriese fles op te maak. Alle standaarde is vanuit hierdie twee stamoplossings berei.

Kleurreagens. 120 mg Xilenoloranje ($\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{O}_{13}\text{N}_2\text{SNa}_4$) is presies afgeweg en na 1000 cm^3 opgemaak.

ii. *VIA-sisteem*. In figuur 4.5 word die VIA-sisteem, waar daar van 'n spektrofotometer gebruik gemaak is, skematies voorgestel. In figuur 4.6 word die VIA-sisteem, waar die AAS as detektor gebruik is, skematies voorgestel.



Figuur 4.5 Skematiese voorstelling van vloeï-inspuitsisteem vir die gebruik saam met spektrofotometer.



Figuur 4.6 Skematiese voorstelling van vloeï-inspuitsisteem vir gebruik in vlam atoomabsorpsie spektrometrie.

VIA-sisteem vir die Spektrofotometer. Die detektor wat gebruik is, was 'n Unicam 8625 UV/VIS spektrofotometer. Die golflengte wat vir deteksie van sink gebruik is, was 572 nm en vir koper 574 nm. Die vloeisel was 'n 10 mm Hellmatipe deurvloeisel. Technicon pompbuis en 'n Cenco peristaltiese pomp, wat teen 10 revolusies per minuut opereer, is as aandrywingsisteem gebruik. Die vloeitempo in die buise is beheer deur van verskillende groottes pompbuis gebruik te maak. Die vermengingsisteem het uit Tygon buisies met 'n interne deursnee van 0.762 mm bestaan. Die lengtes van hierdie buise word duidelik in figuur 4.5 aangetoon. Die spoele (coils, ook aangetoon in figuur 4.5) het bestaan uit genoemde Tygon buisies wat om 'n Perspexstaaf, met 'n buitedeursnee van 15 mm, gedraai is. Die monster is met behulp van 'n VICI tienpoort klep in die draerstroam ingespuut. Daar is van twee verskillende monsterlusgroottes, naamlik 10 en 40 μl , op die inspuutklep gebruik gemaak. Die klep sowel as die detektor was aan 'n rekenaar gekoppel.

VIA-sisteem vir die Atoomabsorpsie spektrofotometer. In hierdie geval 'n Varian AA-1275 vlamatoomabsorpsiespektrofotometer as detektor gebruik. Daar is in die detektor van 'n lug/asetileenbrander gebruik gemaak. Die golflengte vir bepaling van koper was 324.6 nm. Die monochromatiese ligstraal is verkry vanaf 'n Varian 103 multi-elementholkatodelamp. Die stroom in die lamp was 10 A. Die spleetwydte was 0.5 mm. Technicon pompbuis en 'n Cenco peristaltiese pomp, wat teen 10 revolusies per minuut opereer, is as aandrywingstelsel gebruik. Die vloeitempo in die vermengingsisteem is beheer deur van verskillende groottes pompbuis gebruik te maak. Daar is van Tygon buise in die vermengingsisteem gebruik gemaak. Die

interne deursnee van die buise was in alle gevalle 0.508 mm. Die vloeitempo's in die buise en die lengtes van die buise wat gebruik is, word in figuur 4.6 aangetoon.

4.4.2 Metode

(i) Spektrofotometries

Die golflengte van maksimum absorpsie vir die onderskeie xilenol/metaalkomplekse is eers met behulp van die Unicam sagteware pakket vasgestel.

(ii) Spektrofotometer met die kleurreaksie.

Die monster is in die draerstream ingespuut. Die volume wat ingespuut is, het van die konsentrasie van die analiet in die monster afgehang. Vir die hoër konsentrasies is die 10 μl lus op die klep gebruik. Vir laer konsentrasies is die 40 μl lus gebruik. Die monsterprop is afgevoer na die bufferstream wat dit dan verder afgevoer het na die kleurreagensstream. In die kleurreagensstream het die xilenol met die metaalioon gekomplekseer. Die kompleks is na die detektor vervoer waar dit ge-analiseer is. Die golflengte was op onderskeidelik 572 nm en 574 nm vir sink en koper gestel.

(iii) Atoomabsorpsie spektrofotometrie.

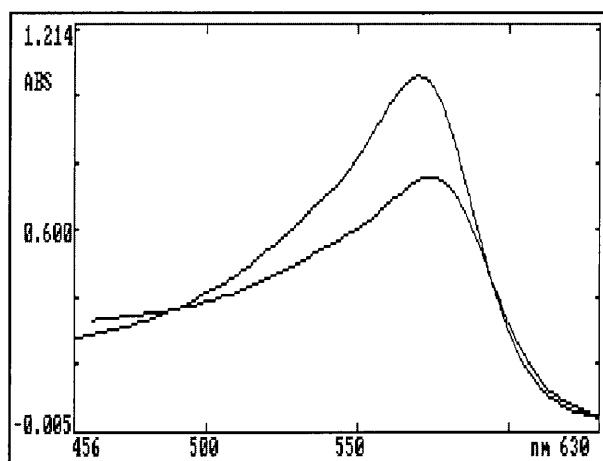
Hierdie metode is slegs by die bepaling van koper aangewend. In hierdie geval is daar nie van 'n buffer of 'n kleurreagens gebruik gemaak nie. Die monster is direk in die draerstream ingespuut en is direk na die vlamatoomabsorpsiespektrofotometer afgevoer. Die golflengte waarby daar gewerk is, was 324.6 nm. Daar is gepoog om in hierdie geval die dispersie so laag as moontlik te hou deur die lengte van die buis

tussen die klep en die AAS so kort as moontlik, en die interne deursnee van die buis so klein moontlik, te hou.

4.4.3 Resultate en bespreking

- (i) Maksimum absorpsie van die metaalkomplekse.

Kyk figuur 4.7. Die kleiner piek in figuur 4.7 stel die koperabsorpsiekromme

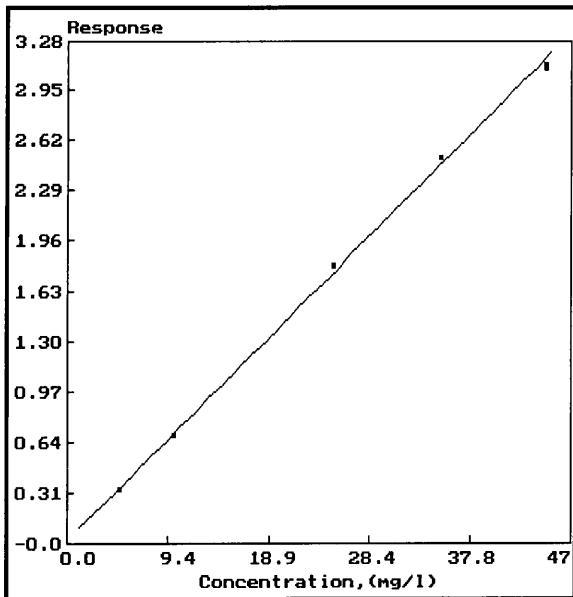


Figuur 4.7 Maksimum absorpsiekrommes vir sink- en koperkomplekse.

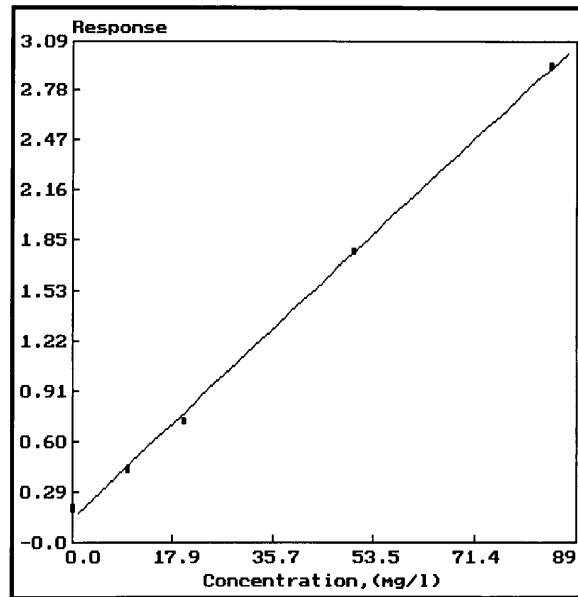
voor. Die rede hoekom die koperkromme kleiner is as die sinkkromme is omdat die konsentrasie van die koper gebruik vir die toets kleiner was as dié van die sink. Daar kan gesien word dat die koper se maksimum absorpsie 'n bietjie meer na regs in die figuur as dié van die sink is. Dit is verder duidelik dat hierdie twee metale nie saam in een monster met behulp van die kleurreaksiemethode ondersoek kan word nie. Al wat in so 'n ondersoek met hierdie metode gedoen kan word, is deur een van die metale te onderdruk.

- (ii) Spektrofotometer met die kleurreaksie.

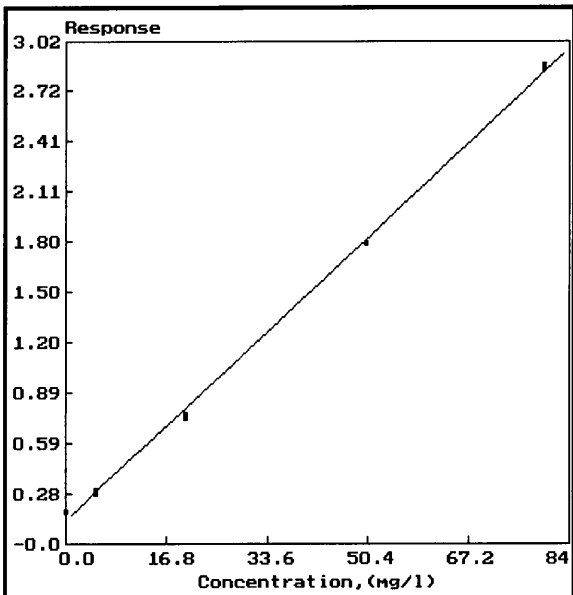
Kyk figure 4.8 en 4.9. In al hierdie figure kan daar gesien word dat daar 'n baie goeie reglynige verband bestaan tussen die respons wat, vanaf die detektor verkry word, en die konsentrasie van die analiet. Dit is duidelik dat die groot monsterlusse vir kleiner analietkonsentrasies, en die kleiner monsterlusse vir die groter analietkonsentrasies, aangewend behoort te word. Daar kan met gemak, met behulp van hierdie metode, tussen die konsentrasievlakke van 5 en 100 mg.dm⁻³, vir beide die metale, gewerk word. Daar kan verder met óf die piekhoogte óf piekarea as indikatie van die analietkonsentrasie gewerk word. Die herhaalbaarheid van hierdie metode was ook uiters goed en het tussen 'n RSA waarde van 1.0 % en 2.0 % gewissel.



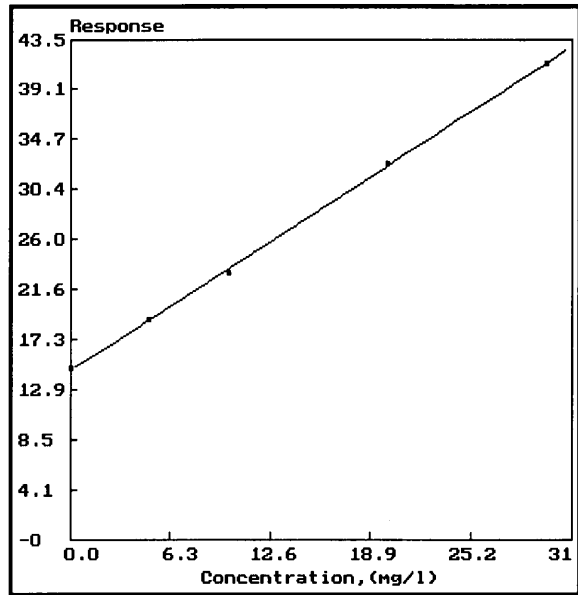
Figuur 4.8 Kalibrasiekromme vir die bepaling van sink met die 10 μl lus op die klep



Figuur 4.9 Kalibrasiekromme vir die bepaling van sink met die 40 μl lus op die klep



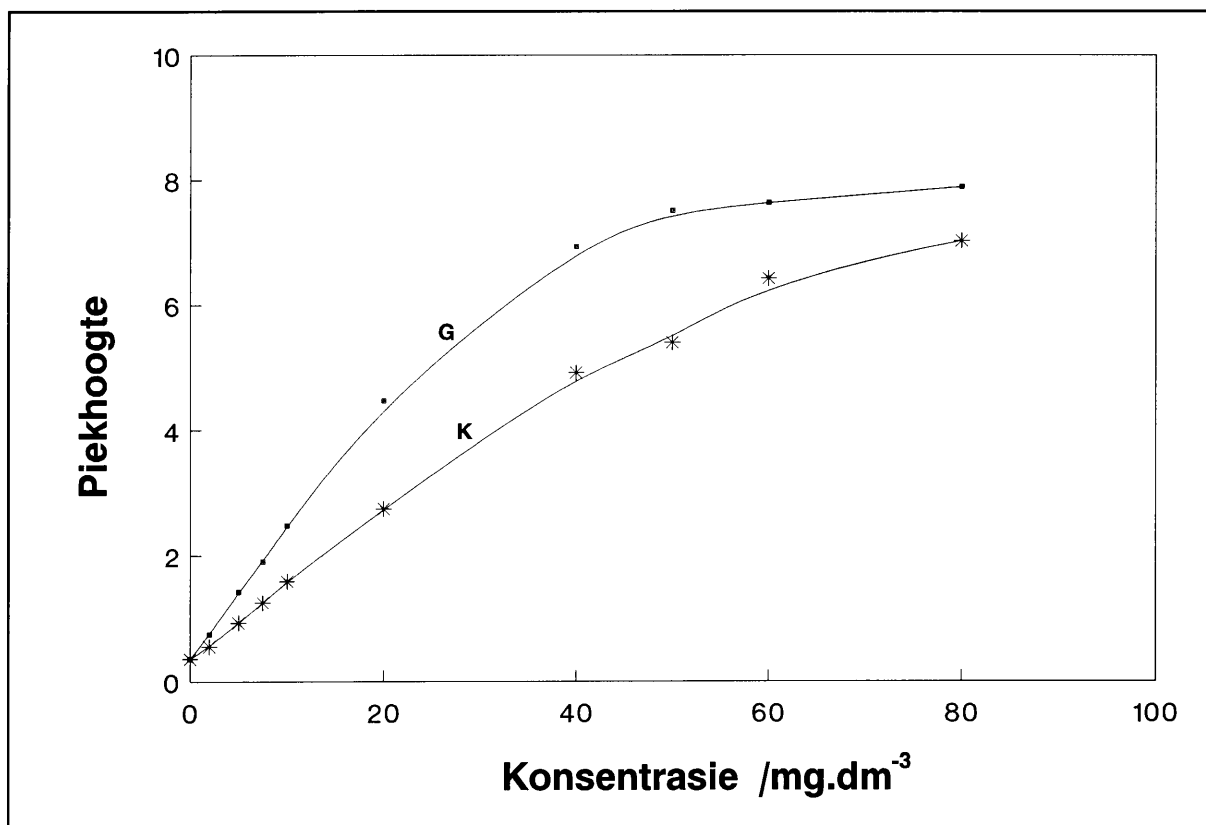
Figuur 4.10 Kalibrasiekromme vir die bepaling van koper met die 10 μl lus op die klep



Figuur 4.11 Kalibrasiekromme vir die bepaling van koper met die 40 μl lus

(iii) Vlamatoomabsorpsiespektrofotometer.

Hierdie eksperiment is met twee monsterlusvolumes op die inspuitsklep gedoen. In die eerste geval is daar na die reglynige verband tussen die konsentrasie van die analiet en die piekhoogte gekyk. Die kalibrasiekrommes vir die twee monsterlusvolumes wat ingespuut is kan in figuur 4.12 gesien word.



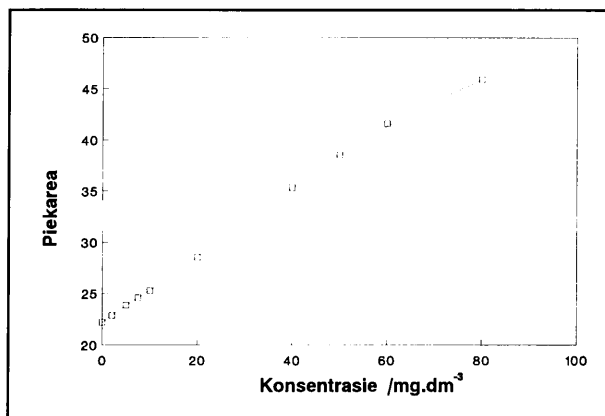
Figuur 4.12 Kalibrasiekrommes van die twee onderskeie monsterlusse. Konsentrasie is teen piekhoogte geplot.

In figuur 4.12 word die kalibrasie kromme van die 40 µl monsterlus met 'n G aangedui, en die kalibrasiekromme van die 10 µl monsterlus word deur 'n K aangedui. Uit figuur 4.12 is dit duidelik dat daar vir kromme G 'n reglynige verband in die konsentrasie tussen 0 en 20 mg.dm⁻³ is. Die reglynige verband in die konsentrasie in die geval van kromme K is tot by 40 mg.dm⁻³. Uit figuur 4.12 is dit ook duidelik dat die helling van kromme G baie groter as die van kromme K by konsentrasies 0 tot 20 mg.dm⁻³ is. Indien daar dus monsters met

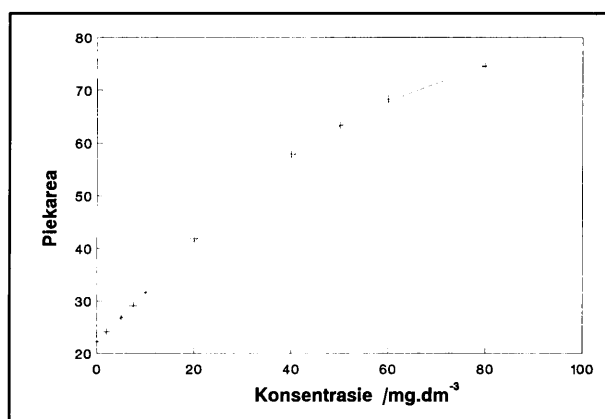
laer konsentrasies by piekhoogte ge-analiseer moet word, dit beter sou wees om van die 60 $\mu\ell$ lus op die klep gebruik te maak.

In figuur 4.13 word die kalibrasiekromme van die 10 $\mu\ell$ monsterlus teen piekarea getoon.

Die kalibrasiekromme vir die 60 $\mu\ell$ monsterlus teen piekarea word in figuur 4.14 getoon.



Figuur 4.13 Kalibrasiekromme van die 10 $\mu\ell$ monsterlus teen piekarea.

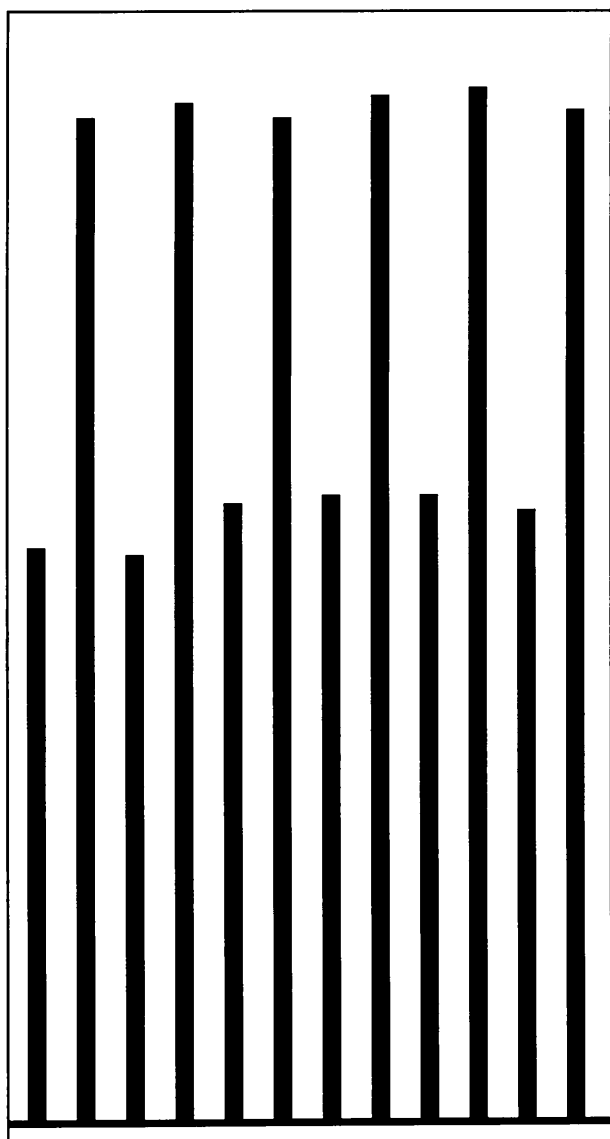


Figuur 4.14 Kalibrasiekromme van die 60 $\mu\ell$ monsterlus teen piekarea.

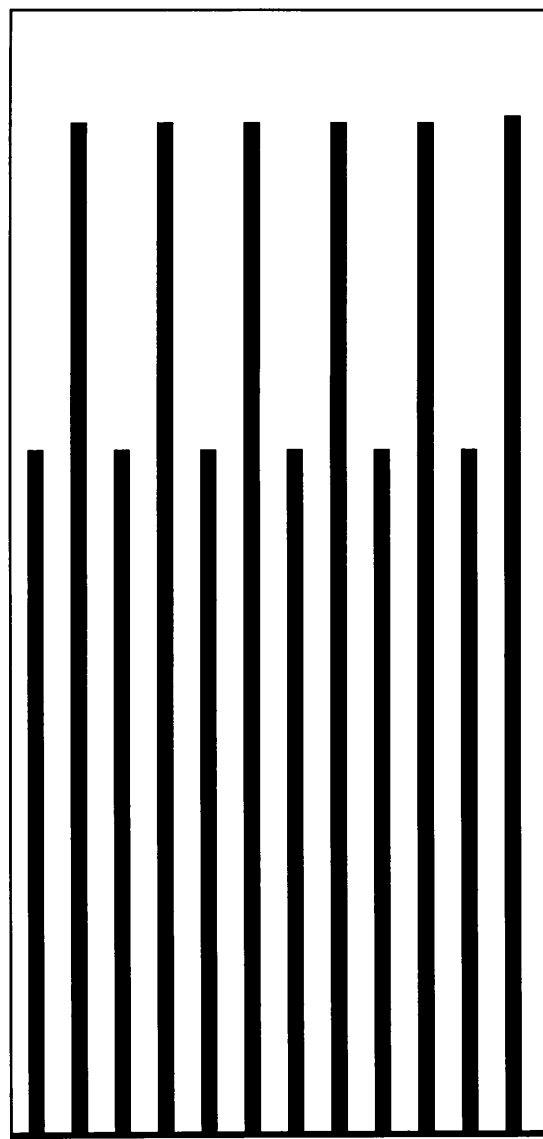
Uit figure 4.13 en 4.14 kan daar gesien word dat in die geval waar daar piekarea gebruik word, is die reglynigheid oor 'n groter konsentrasiegebied versprei. In die geval van die 10 $\mu\ell$ monsterlus is die reglynige verband tussen die konsentrasie en die piekarea tussen 0 en 60 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. In die geval van die 60 $\mu\ell$ monsterlus is die reglynige verband net tussen 0 en

20 mg.dm⁻³. Daar word in hierdie geval ook aanbeveel dat indien daar monsters met lae analietkonsentrasie geanaliseer moet word, die 60 μℓ monsterlus gebruik moet word.

Daar is probleme met die piekhoogte eksperimente ondervind. As gevolg van die puls vanaf die peristaltiese pomp, was die piekhoogte, veral by die 60 μℓ monsterlus met die hoër konsentrasies, nie baie goed herhaalbaar nie. In die geval van eksperimente wat gedoen is met die piekarea, is hierdie probleme nie ondervind nie. In figuur 4.15 word die respons vanaf die piekhoogte getoon. Die respons verkry vanaf die piekarea word in figuur 4.16 getoon. Hierdie figure is dieselfde eksperimente maar die piekhoogte is in die eerste geval gelees en in die tweede geval is die piekarea gelees. Die konsentrasie van die analiet was 20 mg.dm⁻³.



Figuur 4.15 Piekhoogte van 'n 20 mg.dm³ monster wat ses keer agtereenvolgens ge-analiseer is.



Figuur 4.16 Piekarea van 'n 20 mg.dm³ monster wat ses keer agtereenvolgens ge-analiseer is.

Kyk tabel 4.2 vir die statistiese gegewens.

Tabel 4.2 Statistiese gegewens van die piekhoogte- en piekareametodes.

	Piekhoogte			Piekarea		
	SA	Gem	% RSA	SA	Gem	% RSA
10 μ l	0.1204	2.8349	4.2475	0.0580	28.9448	0.2002
60 μ l	0.0609	4.8279	1.2610	0.1479	43.0989	0.3431

Uit tabel 4.2 is dit duidelik dat die piekarea die beter metode vir gebruik is.

Die onderskeie metodes wat die AAS en die spektrofotometer met die kleurreaksie gebruik is kan as volg vergelyk word.

- Die AAS kan tot by 'n konsentrasie van 60 mg.dm^{-3} , vir beide die monsterlusse, 'n analisetempo van 180 analyses per uur handhaaf. In die geval van die spektrofotometer met die kleurreaksie kan daar maksimum 60 monsters per uur ge-analiseer word.
- Die RSA waardes is vir die piekarea by die AAS beter as in die geval van die spektrofotometer.
- Die konsentrasiegebied waarby die spektrofotometer 'n reglynige verband toon is groter as in die geval van die AAS.
- Alhoewel die spektrofotometer met die kleurreaksie 'n eenvoudige sisteem is, is die sisteem wat in die AAS gebruik is nog meer eenvoudig.
- Om die AAS-sisteem op te bou en te laat opereer is duurder as die sisteem waarby by die spektrofotometer en die kleurreaksie gebruik is.

Die besluit oor watter metode gebruik gaan word, sal uitsluitlik deur die analis self oorweeg moet word.

4.5 Verwysings

1. Sagara F, Kobayashi T, Tajima T, Ijyuin H, Yoshida I, Ishii D, Ueno K (1992) **Anal.Chim. Acta. 261: 505.**
2. Barnes D E, Jones E A (1989) **Mintek Report nr. M389** Council for Mineral Technology.
3. Kuroda R, Mochizuki T (1981) **Talanta 28: 389.**
4. Bishop E (1972) **Indicators.** Pergamon Press.
5. Memon M H, Worrnsfold P J (1988) **Analyst 113: 769.**
6. Ferreira J R, Zagatto E A G, Arruda M A Z, Brienza S M B (1990) **Analyst 115: 779.**
7. Koupparis A M, Anagnostopoulou P I (1986) **Analyst 111: 1311**
8. Blanco M, Coello J, Iturriaga H, MasPOCH S, Redón M, Riba J (1992) **Anal. Chim. Acta. 259: 219**
9. Kashiwabara K, Hobo T, Kobayashi E, Suzuki S (1985) **Anal. Chim. Acta. 178: 209**

Hoofstuk 5

Faktore wat dialise beïnvloed

5.1 Inleiding

Daar is in die verlede verskeie artikels gepubliseer oor die effektiwiteit van dialise en die faktore wat die effektiwiteit van dialise beïnvloed. [1-7] 'n Volledige teoretiese agtergrond van die effektiwiteit van dialise in 'n VIA sisteem word in hoofstuk 3 bespreek. Dit is veral Van Staden *et.al.*[1] wat waardevolle navorsing op hierdie gebied gedoen het. Die bevindinge, rakende hierdie onderwerp, in die boek van Fang [2], is gebaseer op die bevindinge van die navorsing gedoen deur Van Staden *et.al.* [1].

In die eksperimentele werk in hierdie verhandeling is daar veral na faktore soos vloeitempo van beide die ontvanger en die skenkerstroom, die volume van die skenker- en die ontvangerstrome onderskeidelik, die verskil in grootte van die membraanoppervlak en die vloeirigting van die skenker- en ontvangerstroom ten opsigte van mekaar gekyk. Die uiteensetting van hierdie eksperimentele werk sal dus ook onder hierdie verskillende aspekte behandel word.

5.2 Eksperimenteel

5.2.1 Reagense en apparaat

Al die reagense en die apparaat wat gebruik was, was standaard vir al die ondersoekes wat gedoen is. Om hierdie rede sal dit dus een keer beskryf word.

Analitiese graad reagentse en dubbeld gedistilleerde water is gebruik.

i. Reagentse

Stamoplossing sink(II)ioon. 'n Stamoplossing met konsentrasie van $4000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ is berei deur presies $35.176 \text{ g ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ af te weeg en op te maak na 2000 cm^3 . Hierdie sinkoplossing is berei vir die eksperimente wat gedoen is in paragrawe 5.3 en 5.4.

Stamoplossing koper(II)ioon. 'n Stamoplossing met konsentrasie van $4000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ is berei deur presies $31.434 \text{ g CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ af te weeg en op te maak na 2000 cm^3 . Hierdie koperoplossings is berei vir die eksperimente wat gedoen is in paragraaf 5.5.

Bufferoplossing. Die asetaatbuffer is berei deur $136 \text{ g CH}_3\text{COONa}$ (natriumasetaat) af te weeg en op te maak na 1000 cm^3 . Die pH van die buffer is ingestel, op $\text{pH} = 5.9$, deur ongeveer 8.5 cm^3 gekonsentreerde asynsuur ($99.7\% \text{ CH}_3\text{COOH}$) by die natriumasetaat oplossing te voeg. Hierna is die oplossing na 1000 cm^3 opgemaak.

Kleurreagens. Die kleurreagens is voorberei deur 0.120 g xilenoloranje af te weeg en op te maak na 1000 cm^3 .

ii. Apparaat

Dialise-eenheid. Die dialise-eenheid wat gebruik is, het uit een enkeldialiseerder bestaan. Die padlengte, van skenker- en ontvangerstrome in die dialiseerder, was 300 mm . Daar was dus 'n afstand van 300 mm tussen die ingang- en die uitgangskant van beide die kanale in die dialiseerder. Die gleuwe in die dialiseerder was semi-buisvormig met 'n interne deursnee van 0.5 mm (met ander woorde 0.5 mm breed en 0.5 mm diep). Die tipe membraan wat gebruik is, was 'n Technicon tipe C membraan.

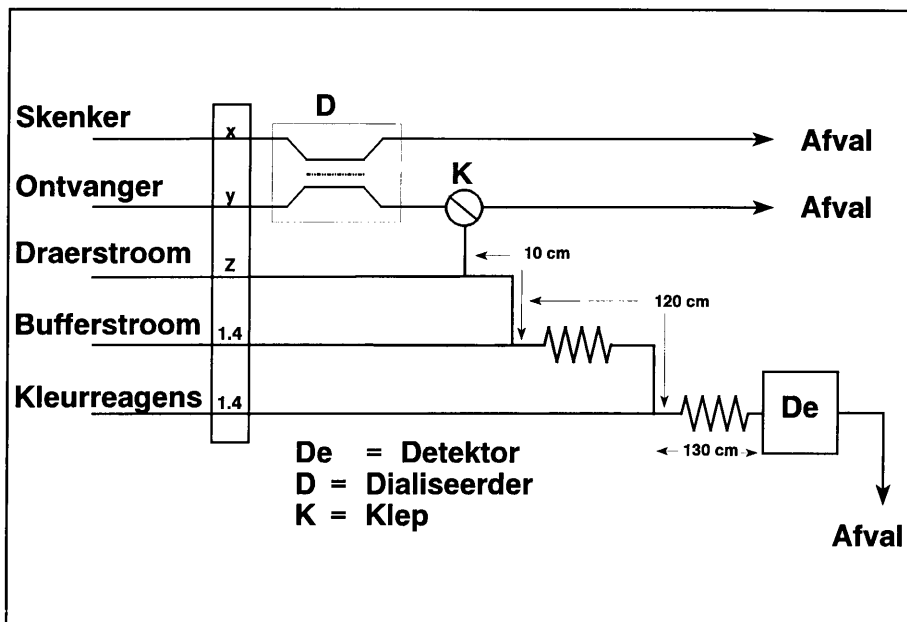
VIA sisteem. Die konsentrasie sink in die ontvangerstroom is bepaal deur gebruik te maak van 'n VIA-sisteem soortgelyk aan die VIA-spektrofotometersisteem wat in hoofstuk 4 beskryf is. By elke afsonderlike eksperiment sal die VIA-sisteem wat gebruik was, aangetoon word. Die vloeï in die skenker- en ontvangerstrome is konstant gehou deur gebruik te maak van 'n Cenco peristaltiese pomp wat teen 10 revolusies per minuut ge-opereer het. Die vermengingsisteem het uit Tygon buise (0.762 mm interne deursnee) bestaan wat in toepaslike lengtes vir elke eksperiment gesny is. Die vermengingspoele is gemaak deur die Tygonbuis styf om 'n Perspexstaaf (15 mm buite deursnee) te draai. Die doel, onder andere, van hierdie vermengingspoel was om die puls vanaf die pomp te verminder. 'n VICI tienpoort inspuitlep, met twee monsterlusse van 10 $\mu\ell$ en 40 $\mu\ell$ onderskeidelik, is gebruik om die dialisaat in die draerstream in te spuit. 'n Unicam 8625 UV\VIS spektrofotometer met 'n Unicam 10 mm padlengte deurvloeiësel is as detektor gebruik. 'n Golflengte van 572 nm is gebruik om die kleur, gevorm deur die Zn^{2+} /xilenoloranjekompleks, te absorbeer. Vir die Cu^{2+} /xilenoloranjekompleks is 'n golflengte van 574 nm gebruik. Waar dit nodig was, is daar van 'n roerder gebruik gemaak om die oplossing te homogeniseer.

5.3 Die bepaling van die invloed van vloeitempo en vloeirigting van die skenker- en ontvangerstrome op die effektiwiteit van dialise.

5.3.1 Metode

Die prosedure gevolg word stapsgewys uiteengesit:

Deel 1: Die skenkerstroom (X in figuur 5.1) se vloeitempo is konstant teen 2.93 $cm^3 \cdot min^{-1}$ gehou. Die vloeirigting van die skenker- en ontvangerstrome was dieselfde.



Figuur 5.1

Skematiese voorstelling van die VIA sisteem soos gebruik vir die ondersoek na invloed van vloeitempo van die skenker- en ontvangerstroom op effektiwiteit van dialise.

- (i) In die skenkerstroom is daar 'n sinkoplossing van $71 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ laat deurvloei. Die vloeitempo van die ontvangerstroom was $2.73 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Daar is toegelaat dat die sisteem vir 3 minute so opereer sodat daar 'n ewewig in die tempo van dialise ingestel kon word.
- (ii) Die klep is geskakel sodat die dialisaat in die draerstream ingespuit is.
- (iii) Die dialisaatprop is afgevoer na die bufferstream en vandaar na die kleurreagensstroom waar die kleurreaksie tussen die xilenoloranje en die Zn^{2+} -ione plaasgevind het.
- (iv) Die reaksieproduk is na die detektor vervoer waar die kleurintensiteit van die reaksieproduk waargeneem is en die sein na 'n rekenaar gestuur is waar dit met behulp van die *FlowTek* program verwerk is. [8] Vanaf die detektor is die reaksieproduk na die afval weggevoer.

- (v) Die oplossing wat deur die skenkerstroom vloei, is vervang met 'n oplossing waarvan die konsentrasie 143 mg.dm^{-3} was. Stappe (i) tot (iv) is herhaal.
- (vi) Nadat stappe (i) tot (iv) herhaal was, is die sinkoplossing in die skenkerstroom weereens met sinkoplossings met die volgende onderskeie konsentrasies vervang: 286, 500 en 714 mg.dm^{-3} . Vir elke konsentrasie is stappe (i) tot (iv) herhaal.
- (vii) Nadat stap (iv) met die elke konsentrasie herhaal was, is die vloeitempo van die ontvangerstroom na die volgende onderskeie vloeitempo's verander: 1.78, 0.82, 0.40 en $0.18 \text{ cm}^3.\text{min}^{-1}$. Stappe (i) tot (vi) is vir al die onderskeie vloeitempo's van die ontvangerstroom herhaal.

Deel 2: Ontvangerstroom (Y se waarde in figuur 5.1) se vloeitempo is konstant gehou teen $0.277 \text{ cm}^3.\text{min}^{-1}$. Die vloeirigting van die skenker- en ontvangerstrome was dieselfde.

- (i) Stappe (i) tot (iv) van deel 1 is herhaal met dié verskil dat die ontvangerstroom se vloeitempo nou $0.277 \text{ cm}^3.\text{min}^{-1}$ was.
- (ii) Die skenkerstroom se vloeitempo is verskeie kere verander en is stap (i) van deel 2 vir elke verskillende skenkerstroomvloeitempo herhaal. Die vloeitempo van die skenkerstroom is onderskeidelik na 2.73, 1.78, 0.82, 0.40 en $0.18 \text{ cm}^3.\text{min}^{-1}$ verander.

Deel 3. Deel 3 is 'n herhaling van dele 1 en 2 maar met die verskil dat die vloeirigtings van die skenker- en ontvangerstrome teenoorgesteld was.

5.3.2 Resultate en bespreking

Die persentasie dialise is met behulp van vgl. 3.22 bepaal. Dit is as volg gebruik:

$$\%Dialise = \frac{C_o}{C_s} \times 100$$

In Tabel 5.1 word die gemiddelde persentasie dialise vir die eksperimente, waar die skenkerstroom se vloeitempo konstant gehou was (resultate van deel 1), getoon. In Tabel 5.2 word die gemiddelde persentasie dialise, vir die eksperimente waar die ontvangerstroom se vloeitempo konstant gehou is, uiteengesit.

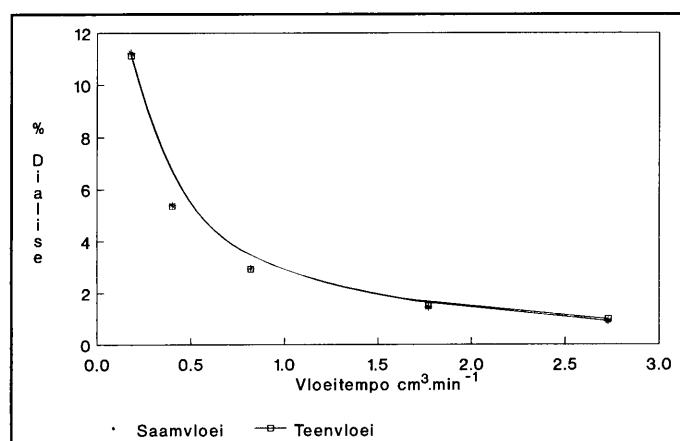
Tabel 5.1 Die gemiddelde persentasie dialise vir 'n konstante skenkerstroom vloeitempo van 2.93 cm³.min⁻¹.

Vloeitempo ontvangerstroom / cm ³ .min ⁻¹	% Dialise saamvloei	% Dialise teenvloei
2.73	0.904	0.987
1.87	1.454	1.499
0.82	2.946	2.931
0.40	5.378	5.340
0.18	11.232	11.128

Die gemiddelde persentasie dialise, hierbo genoem, is bereken deur die persentasie dialise van al die verskillende konsentrasies van die skenkerstroom, by 'n spesifieke vloeitempo, te neem en die gemiddeld daarvan te bereken. Dieselfde is vir die konsentrasies in die ontvangerstroom gedoen. Die resultate, van die ondersoek na die invloed van die onderskeie vloeirigtings van die skenker- en ontvangerstrome, word grafies in figure 5.2 en 5.3 uiteengesit.

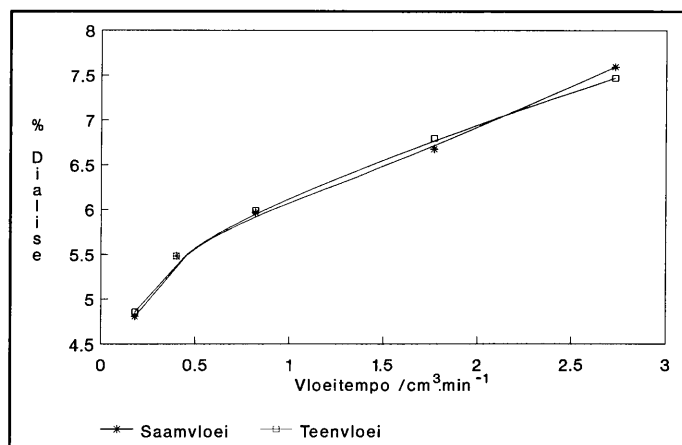
Tabel 5.2 Die gemiddelde persentasie dialise by 'n konstante ontvangerstroom vloeitempo van $0.28 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$.

Vloeitempo skenkerstroom / $\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$	% Dialise saamvloei	% Dialise teenvloei
2.73	7.594	7.468
1.87	6.677	6.797
0.82	5.964	5.989
0.40	5.483	5.483
0.18	4.808	4.858



Figuur 5.2 Vergelyking tussen saam-en teenvloeirigting van die skenker- en ontvangerstrome met die skenkerstroom vloeitempo konstant.

Uit figuur 5.2 is dit duidelik dat die persentasie dialise toeneem met 'n afname in die vloeitempo van die ontvangerstroom. Uit figuur 5.3 is dit duidelik dat 'n toename in die vloeitempo van die skenkerstroom 'n toename in die persentasie dialise tot gevolg het. Dié toon verder dat die persentasie dialise in figuur 5.2 eksponensieel toeneem met 'n afname in die vloeitempo van die ontvangerstroom. Dit sal dus, wiskundig uitgedruk, neig na 100% as die vloeitempo van die ontvangerstroom neig na $0 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Dit is egter prakties onmoontlik en die vloeitempo moet dus aangepas word om by die eksperimentele behoeftes



Figuur 5.3 Vergelyking tussen saam- en teenvloei van die skenker- en ontvangerstrome met die ontvangerstroom vloeitempo konstant.

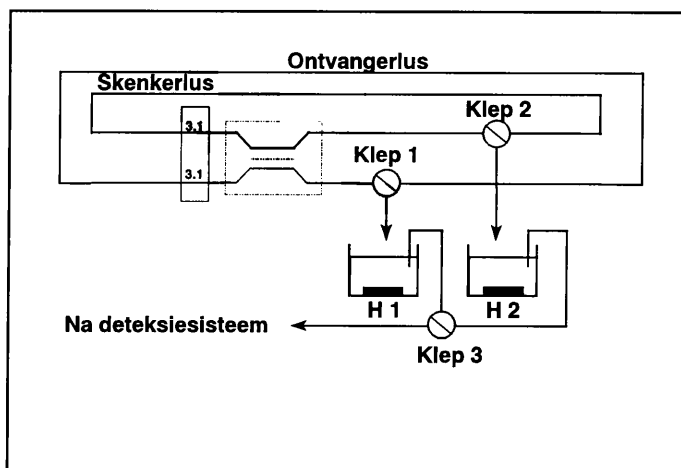
te pas. Netso moet die vloeitempo van die skenkerstroom aangepas word om by die eksperimentele behoeftes te pas. Aanvanklik neem die persentasie dialise reglynig toe met 'n toename in die vloeitempo van die skenkerstroom. Daar kom egter 'n afplating in die toename voor as die vloeitempo hoër as $0.5 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ styg. Hierna is die toename nog steeds reglynig maar met 'n kleiner helling. Uit figure 5.2 en 5.3 is dit duidelik dat die vloeirigting van die skenker- en ontvangerstrome geen invloed op die effektiwiteit van dialise het nie.

Indien daar van dialise in 'n vloeisisteam gebruik gemaak gaan word, moet die beskikbaarheid en konsentrasiegebied van die analiet in aanmerking geneem word by die keuse van 'n vloeitempo vir die skenker- en ontvangerstrome.

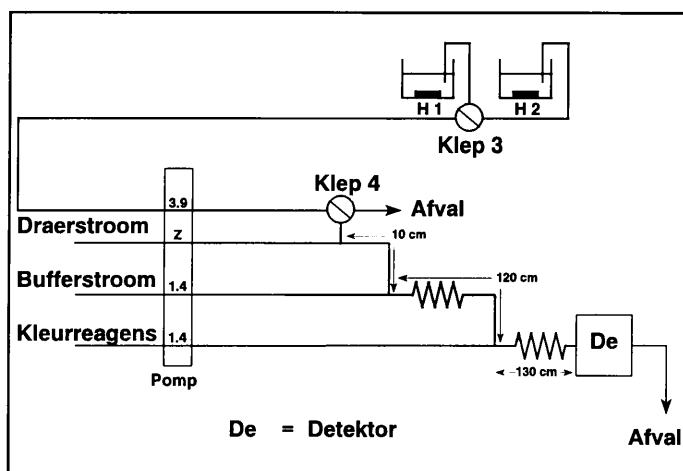
5.4 Die bepaling van die invloed van volume op die effektiwiteit van dialise

5.4.1 Metode

In figuur 5.4 word 'n skematiese voorstelling van die dialisesisteam, wat in die VIA-sisteam gebruik was, voorgestel.



Figuur 5.4 'n Skematiese voorstelling van die dialisesisteen wat gebruik is.



Figuur 5.5 Skematiese voorstelling van die VIA-sisteen wat in samewerking met dialisesisteen in figuur 5.4 gebruik is.

Vir alle eksperimente wat in paragraaf 5.4 behandel word, was die vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstrome dieselfde, naamlik $3.12 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Die aanvanklike konsentrasie van die Zn^{2+} -ioon in die skenkerstroom was $75.0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Deel 1. Die volume van die ontvangerlus is konstant gehou by 3696 $\mu\ell$.

- (i) Die pomp is aangeskakel en vir 3 minute laat loop sodat daar ewewig in die tempo van dialise ingestel kon word. Hierna is die skenker- en ontvangerstrome afgesluit sodat beide 'n geslote lus vorm. Die volume van die skenker- en ontvangerlusse was onderskeidelik 3716 $\mu\ell$ en 3696 $\mu\ell$.
- (ii) Die sisteem, met die geslote lusse, is toegelaat om 5 minute te opereer.
- (iii) Klep 1 en 2 is geskakel sodat die inhoud van die skenker- en ontvangerlusse (kyk figuur 5.4) onderskeidelik na homogeniseerder H 1 en H 2 gepomp is.
- (iv) Die monsters is gehomogeniseer vir 2 minute.
- (v) Na die homogeniseringstap is die mengsels, volgens die VIA-sisteem soos aangetoon in figuur 5.5, ge-analiseer. Klep 3 is gebruik om die vervoer van die onderskeie mengsels na die VIA-sisteem te beheer. (Klep 3 in figuur 5.4 is dieselfde klep as klep 3 in figuur 5.5.)
- (vi) Klep 4 is geskakel sodat die monster is in die draerstroom ingespuut is. (Kyk figuur 5.5.) Die vloeitempo van die draerstroom is, na gelang van die konsentrasie van die analiet in die monster, aangepas. Die monsterprop met behulp van die draerstroom is na die bufferstroom vervoer. Die bufferstroom het die monsterprop/buffermengsel na die kleurreagensstroom vervoer waar die kleurreaksie plaasgevind het. Die kleurintensiteit, van die produk van die kleurreaksie, is deur die spektrofotometer by 572 nm gelees. Die spektrofotometer is aan 'n rekenaar gekoppel wat, met behulp van die *FlowTek* program die sein verwerk het.
- (vii) Stap (i) tot (vi) is herhaal met die verskil dat die tye by stap (ii) verander gemaak is. Die tye wat wat onderskeidelik gebruik is, was die volgende: 10,

15, 20, 30, 60, 180, 240, en 960 minute. Vir elke afsonderlike tyd is stappe (i) tot (vi) herhaal.

(viii) Na stap (vii) is die skenkerlusvolumes verander. Die volgende skenkerlusvolumes is gebruik: 1462, 2366, 3716 en 11633 $\mu\ell$. Vir elkeen van hierdie onderskeie skenkerlusvolumes is stappe (i) tot (vii) herhaal.

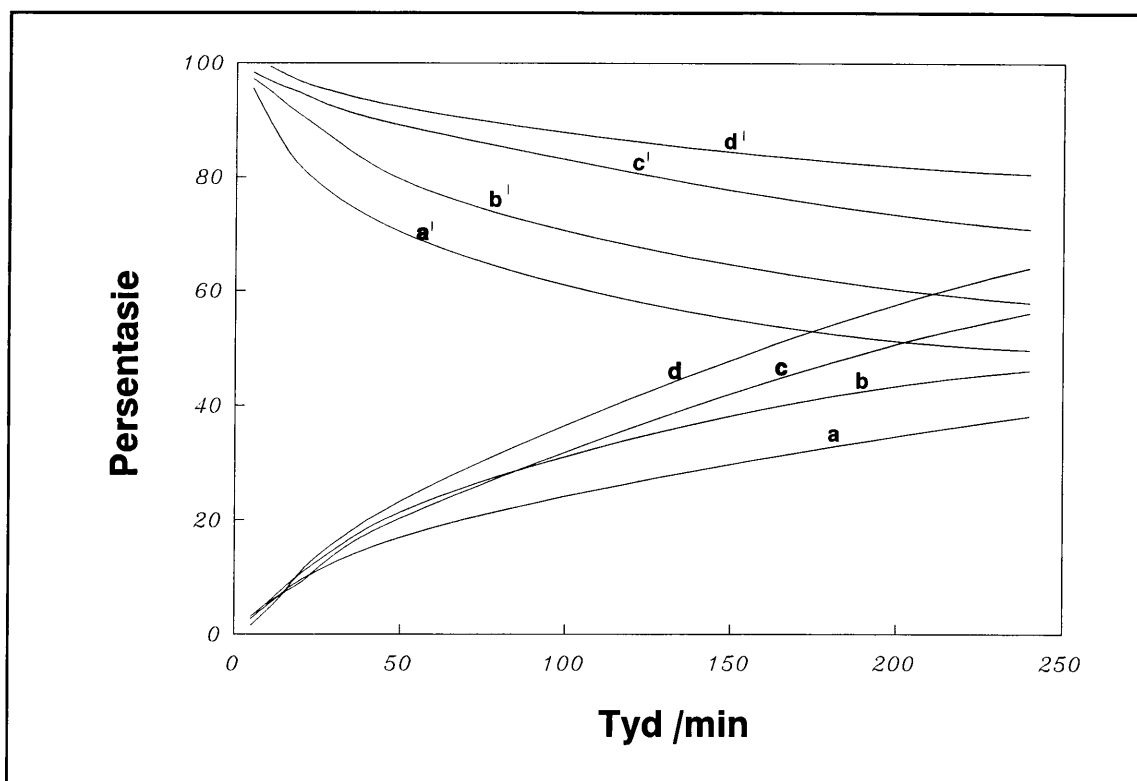
Deel 2. Die volume van die skenkerlus is konstant gehou by 3706 $\mu\ell$.

Dieselfde prosedure as in deel 1 is in deel 2 gevolg. Die verskil kom egter daarby dat, in deel 2, die volume van die ontvangerlus verander is maar die van die skenkerlus konstant gebly het by 3706 $\mu\ell$. Die onderskeie ontvangerlusvolumes wat bestudeer is, was die volgende: 1462, 2366, 3696, 6854 en 10812 $\mu\ell$. Die dialise- en die VIA-sisteem vir hierdie gedeelte van die navorsing gebruik is dieselfde as dié wat in figure 5.4 en 5.5 uiteengesit is.

5.4.2 Resultate en bespreking

Resultate van deel 1. Die ontvangerlusvolume is konstant gehou.

'n Grafiese voorstelling van die resultate van deel 1 word in figuur 5.6 getoon. Die persentasie, waarna daar in die grafiek verwys word, is bepaal deur die konsentrasies van die skenker- en die ontvangerlusse na dialise te bepaal en dit uit te druk as 'n persentasie van die aanvanklike konsentrasie van die skenkerlus. In die geval van die ontvangerlus is dit dié persentasie dialise wat bepaal is. In figuur 5.6 word daar na die verskillende krommes met letters verwys. Letters a tot d is die krommes van die persentasie dialise vir verskillende dialisetye in die ontvangerlus. (a tot d = 3696 $\mu\ell$) Letters a' tot d' is die persentasie Zn^{2+} -ione wat oorgebly het in die skenkerstroom na 'n sekere dialisetyd. (a' = 1462 $\mu\ell$, b' =



Figuur 5.6 Die verandering in die konsentrasie in die skenker- en ontvangerlusse onderskeidelik met die verandering in tyd. Ontvangerlus volume was konstant.

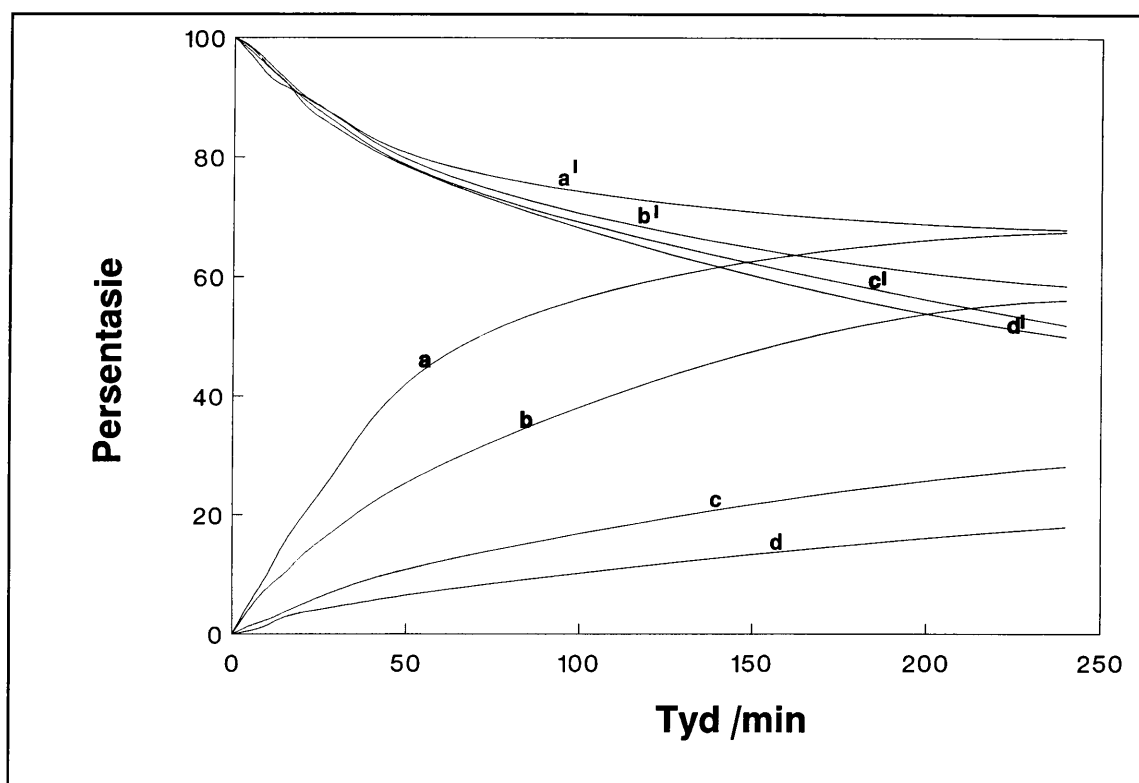
2366 μl , $c' = 7675 \mu\text{l}$ en $d' = 11633 \mu\text{l}$.) Letters a en a' stel dieselfde eksperiment se onderskeie ontvanger- en skenkerlusse voor. Netso geld dit ook vir letters b tot d en b' tot d'. Uit figuur 5.6 kan daar gesien word dat die toename in die konsentrasie van die Zn^{2+} -ioon in die ontvangerlus aanvanklik reglynig met tyd is tot by 'n dialisetyd van 30 min. Hierna vind daar 'n afplating plaas. So is daar ook 'n reglynige afname in die konsentrasie van skenkerlus met die toename in tyd oor die eerste 30 min van dialise. Hierdie tendens kan veral in kromme a' waargeneem word. Die variasie, oor die eerste 30 minute van dialise, in die absolute waardes van die hellings van krommes a' tot d' is baie meer opsigtelik as in die geval van krommes a tot d. Die rede hiervoor is omdat die aantal mol, wat uit die skenkerlusse dialiseer oor die eerste 30 minute, ongeveer dieselfde vir al die ontvangerlusse is. Aangesien die skenkerlusvolumes nie dieselfde is nie, sal die konsentrasie in die skenkerlus, na homogenisering baie verskil. (Kyk ook die verduideliking by die resultate van

deel 2.) Verder kan die waarneming gemaak word dat die absolute waarde van die helling van kromme a' en b' groter is, en die van c' en d' kleiner is, as die hellings van die krommes a tot d. Die rede hiervoor is gesetel in die konsentrasiegradiënt wat oor die eerste 30 minute tussen die skenker- en ontvangerlusse bestaan. Omdat skenkerlus a' se volume baie kleiner is as die res van die van die ander skenkerlusvolumes, sal die konsentrasie in a' noodwendig vinniger afneem. Om dieselfde rede sal die konsentrasie in b' vinniger afneem as in c' en d'. Die hellings van krommes a tot d bly egter ongeveer dieselfde oor die eerste 30 minute. Die rede hiervoor is, alhoewel die konsentrasie in a' en b' vinnig afgeneem het, was die verskil rakende die totale aantal mol Zn^{2+} -ione wat gedialiseer het, nog nie so groot oor die eerste 30 minute nie. Na 30 minute het die konsentrasiegradiënt egter so afgeneem tussen a en a', dat die tempo van dialise drasties begin afneem het in vergelyking met die ander pare skenker- en ontvangerlusse. Daar kan uit figuur 5.6 duidelik gesien word dat die krommes van a tot d eweredig verspreid raak na 30 minute van dialise. Samevattend kan daar dus gesê word dat oor die eerste 30 minute van dialise het die verandering in die skenkerlusvolume nie 'n noemenswaardige invloed op die konsentrasie in die ontvangerlusse veroorsaak nie. Daar is egter groot variasies waargeneem in die konsentrasie van die skenkerlus met die verandering van die skenkerlusvolume.

Resultate van deel 2. Skenkerlusvolume is konstant gehou.

'n Skematiese voorstelling van die resultate van deel 2 verskyn in figuur 5.7. Die persentasie waarna daar verwys word, is die persentasie wat die konsentrasie in die skenkerstroom afgeneem het by verskillende dialisetye. Vir die ontvangerstroom stel die persentasie die persentasie dialise by 'n sekere dialisetyd voor. Hierdie persentasie dialise is bereken met

die hulp van vergelyking 3.21. In figuur 5.7, netsoos in figuur 5.6, kom daar vier pare krommes voor.

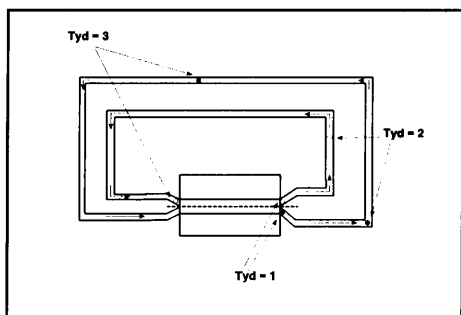


Figuur 5.7 Die verandering in die konsentrasie in die skenker- en ontvangerlusse onderskeidelik met die verandering in tyd. Skenkerlus volume was konstant.

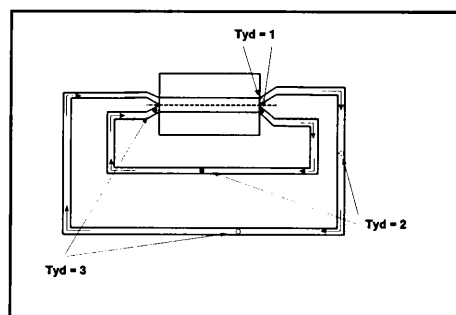
Krommes a, b, c, en d pas onderskeidelik by a', b', c' en d'. Krommes a tot d stel die ontvangerlusvolumes voor. ($a = 1462 \mu l$, $b = 2366 \mu l$, $c = 6854 \mu l$ en $d = 10812 \mu l$.) Krommes a' tot d' stel die ooreenstemmende skenkerlusvolumes voor. Die volume van die skenkerlus was deurentyd $3706 \mu l$. In figuur 5.7 kan daar gesien word dat daar 'n reglynige verband in die konsentrasie verandering in die skenker- en ontvangerlusse oor die eerste 30 minute van dialise was. In figuur 5.7 kan gesien word dat die afname in die konsentrasie in die skenkerlusse, a' tot d', dieselfde helling vir die eerste dertig minute van dialise het. Daar is egter 'n groot verskil in die hellings van krommes a tot c. Die helling van c en d is ongeveer dieselfde. Die rede vir hierdie verskynsels kan as volg verduidelik word: Die

volume van die skenkerlus is heelwat groter as die volumes van die onvangerlusse deur krommes a en b voorgestel word. Die volumes van die onvangerlusse wat voorgestel word deur krommes c en d is egter groter as die van die skenkerlusvolume. As daar na metode 2 gekyk word, sal daar gesien word dat daar slegs vir 5 minute, daarna vir 10 minute tot by 30 minute gedialiseer word. Aangesien die vloeitempo's in die skenker- en onvangerlusse dieselfde was, en omdat die volumes in die skenker- en onvangerlusse nie dieselfde was nie, sal die konsentrasiegradiënt tussen die twee lusse vir die eerste 30 minute ongeveer dieselfde wees vir al die verskillende onvangerlusse. (Kyk figure 5.8 en 5.9) By tyd = 1 in beide die figure, is die denkbeeldige punte in die skenker- en onvangerlusse net by die dialiseerder uit. Met die verloop van tyd kan hierdié twee denkbeeldige punte by Tye = 2 en 3 gesien word. Dit is duidelik uit beide figure 5.8 en 5.9, dat die kans dat hierdie twee denkbeeldige punte weer op dieselfde tyd, in die 30 minute dialisetyd, regoor mekaar in die dialiseerder sal beweeg, uiters gering sal wees. Om hierdie rede sal die konsentrasiegradiënt relatief hoog bly vir al die pare van skenker- en onvangerlusse. Omdat die konsentrasiegradiënt ongeveer dieselfde is vir die onderskeie skenker- en onvangerlusse is, sal die aantal mol ione wat dialiseer ongeveer dieselfde wees vir al die onvangerlusse. Na ongeveer 30 minute sal die konsentrasie in die onvangerlusse sodanig versprei en toegeneem het, dat die konsentrasiegradiënt afneem en tesame hiermee die tempo van dialise. Hierdie laaste effek is groter vir die kleiner onvangerlusse. Aan die einde van elke dialisetyd, is elke skenker- en onvangerlus eers gehomogeniseer voordat dit ge-analiseer is. Die aantal mol ione wat uit elke skenkerlus na die onderskeie onvangerlusse toe gedialiseer het, is ongeveer dieselfde vir elke dialisetyd vir die eerste 30 minute. Al die skenkerlusvolumes was egter dieselfde en sal almal dieselfde afname in konsentrasie toon. Die onvangerlusvolumes was egter verskillend. Die klein onvangerlusvolumes het egter dieselfde aantal mol ione ontvang as

die groter ontvangerlusvolumes. Die konsentrasie van die Zn^{2+} -ione sal dus, na homogenisering, hoër wees vir die kleiner ontvangerlusvolumes.

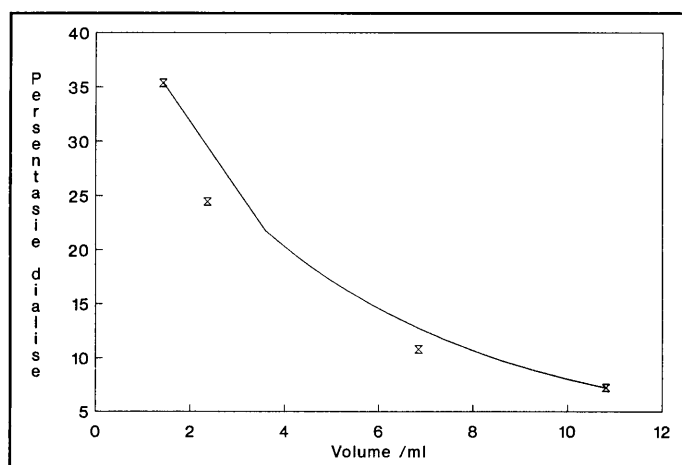


Figuur 5.8 Skematiese voorstelling van 'n groot ontvangerlus- en kleiner skenkerlusvolume.



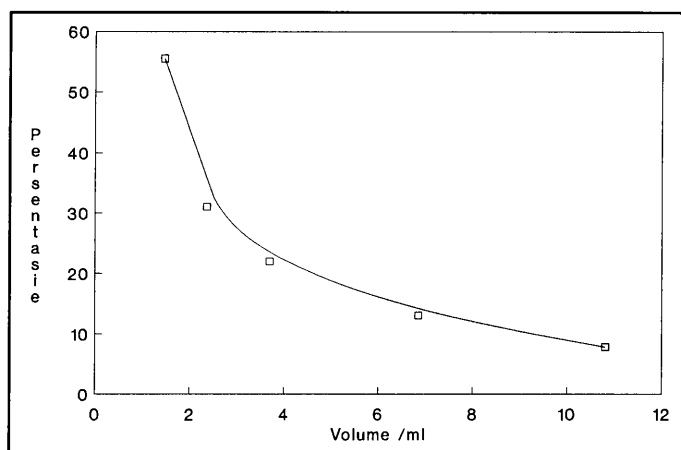
Figuur 5.9 Skematiese voorstelling van 'n groter skenkerlus- en 'n kleiner ontvangerlusvolume.

Verdere verwerking is gedoen op die konsentrasies in die verskillende ontvangerlusse. Die persentasie dialisie wat by dialisetyd gelyk aan 30 minute bepaal was, is teen die volume in die verskillende ontvangerlusvolumes gestip. Hierdie resultaat kan in figuur 5.10 gesien word.



Figuur 5.10 'n Vergelyking van die toename in konsentrasie van die verskillende ontvangerlusse by dialisetyd = 30 minute.

Uit figuur 5.10 kan dit gesien word dat die persentasie dialise eksponensieel afneem met toename in die ontvangerlusvolume. Hierdie tendens sal meer opsigtelik wees as daar na die krommes in figuur 5.7 by dialisetye hoër as 30 minute gekyk word.



Figuur 5.11 Vergelyking van die toename in konsentrasie in die verskillende ontvangerlusse by tyd = 60 minute.

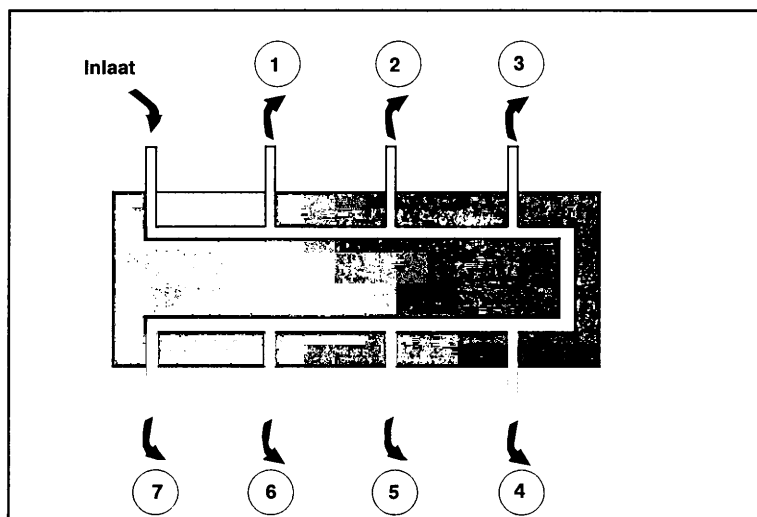
Dieselfde kromme as in figuur 5.10 is in figuur 5.11 getrek, maar in laasgenoemde geval is die persentasie dialise (as punte) by 'n dialisetyd gelyk aan 60 minute geneem. Daar kan gesien word dat die twee grafieke dieselfde vorm het.

Die resultate van deel 1 en 2, as 'n geheel gesien, toon dat die persentasie dialise, in die gevalle waar die skenkerlusvolume kleiner as die ontvangerlusvolume was, nooit meer as 50 % gestyg het nie. Die persentasie dialise, vir die omgekeerde geval waar die ontvangerlusvolume kleiner as die skenkerlusvolume was, het hoër as 50 % gestyg met die verloop van dialisetyd. Die rede hiervoor was as gevolg van die groot verdunning, in die geval waar die skenkerlusvolume kleiner as die ontvangerlusvolume was. Dit het die konsentrasiegradiënt met toename in dialisetyd baie verklein. Die aantal mol Zn^{2+} -ione in die skenkerlus is met meer as die helfte, in die bogenoemde geval verminder.

5.5 Die bepaling van die invloed van die oppervlakte, waardeur dialise plaasvind, op die effektiwiteit van dialise.

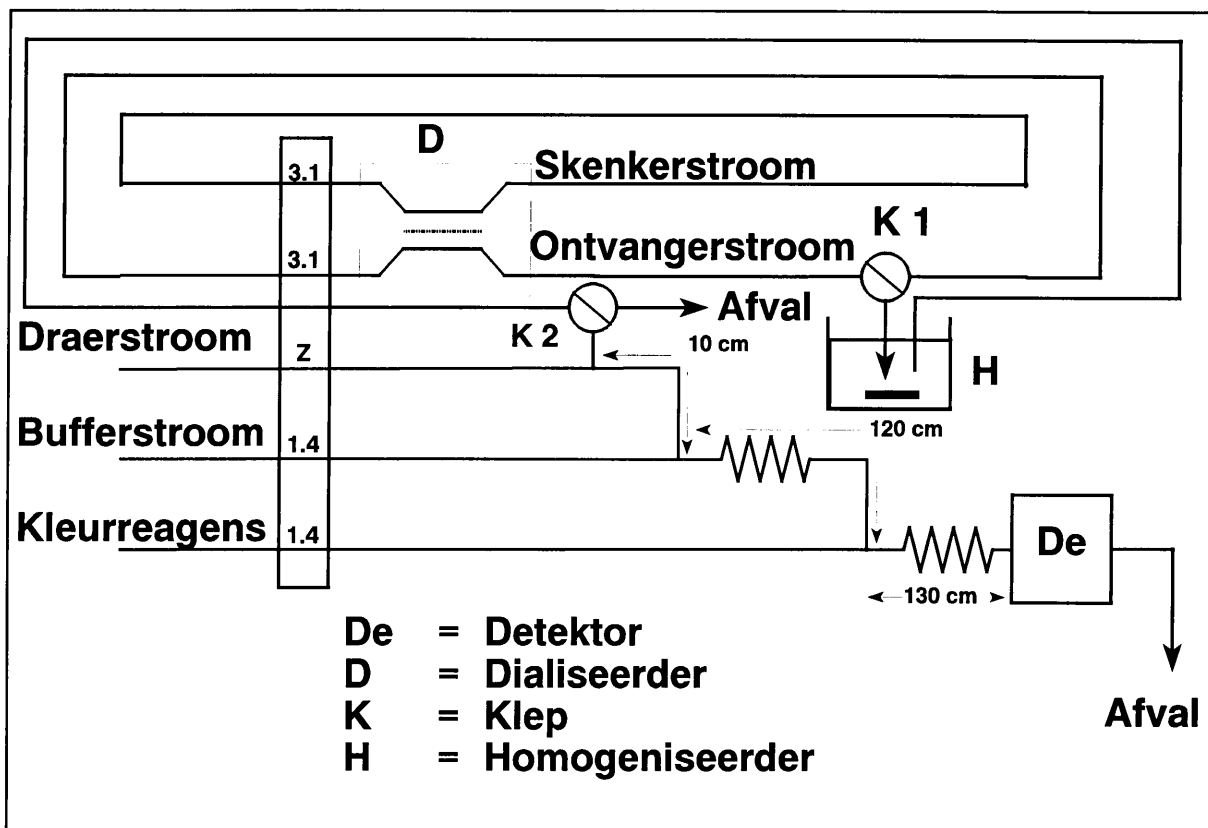
5.5.1 Metode

Die tipe VIA-sisteem wat in hierdie geval gebruik is, was dieselfde as die sisteem in figuur 5.5. Die dialise-sisteem wat gebruik was, het van dié in figuur 5.4 verskil in die sin dat die skenkerstroom nie ge-analiseer is nie. Die tipe dialiseerder wat in hierdie geval gebruik was, het ook verskil van dié wat in figuur 5.4 gebruik was. Die volumes van die skenker- en ontvangerlusse was vir al die eksperimente dieselfde. (Skenker- en ontvangerlusvolumes = $4610 \mu\text{l}$, met die volume, in die dialiseerder self, nie hierby ingereken nie) Die vloeitempo's, in beide die skenker- en ontvangerlusse was $3.5 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Die dialiseerder het van dié, wat in paragrawe 5.3 en 5.4 gebruik was, verskil deurdat daar in hierdie geval verskillende aftappunte op die skenker- en ontvangerblok van die dialiseerder aangebring was. (Kyk figuur 5.12) Die doel hiervan was om deur middel van verskillende aftappunte die padlengte, waardeur dialise in die dialiseerder plaasvind, te beheer.



Figuur 5.12 Skematiese voorstelling van die dialiseerder wat gebruik was.

In figuur 5.12 word slegs een van die twee helftes van die dialise-eenheid vertoon. Die ander deel, wat 'n spieëlbeeld van die eerste is, pas direk op die deel wat in figuur 5.12 vertoon word. In figuur 5.13 is 'n skematiese voorstelling van die VIA- en die dialisesisteme



Figuur 5.13 Skematiese voorstelling van die VIA- en die dialisesisteme wat gebruik is.

wat gebruik was.

Die metode wat by hierdie eksperimente gevolg is, word nou stapsgewys uiteengesit.

- (i) Die pomp is aangeskakel, en toegelaat om vir 3 minute te pomp, sodat ewewig in die tempo van dialise ingestel kan word. Die aanvanklike Cu^{2+} -ioonkonsentrasie in die skenkerstream was 300 mg.dm^{-3} . Die ontvangerstream het by die inlaat van die dialiseerder ingegaan en by aftappunt 7 uitgegaan. (Kyk figuur 5.12)

- (ii) Die skenker- en ontvangerstrome is gesluit sodat geslote lusse gevorm is.
- (iii) Die sisteem is toegelaat om vir 5 minute te dialiseer. Na 5 minute is klep 1 geskakel en is die inhoud van die ontvangerlus na die homogeniseerder gepomp.
- (iv) Die dialisaat van die onvangerlus is vir 2 minute gehomogeniseer.
- (v) Na die homogeniseringstap is die mengsel uit die homogeniseerder na klep 2 gepomp.
- (vi) Klep 2 is geskakel sodat die monster in die draerstream ingespuut is. Die vloeitempo van die draerstream is by die analietkonsentrasie van die mengsel aangepas. (met ander woorde die waarde van Z in figuur 5.13)
- (vii) Die monsterprop is vanaf die draerstream na die bufferstream vervoer. Vanaf die bufferstream is die monster/buffermengsel na die kleurreagensstream vervoer. Hier het 'n kleurreaksie tussen die Cu^{2+} -ione en die xilenoloranje plaasgevind. Die reaksieproduk is na die spektrofotometer vervoer waar die kleurintensiteit van die reaksieproduk gemeet is. (Die golflengte van maksimum absorpsie van die koper/xilenoloranje-kompleks was 574 nm.) Na die analise is die reaksieproduk na die afval weggevoer.
- (viii) Sonder om aan die sisteem te verander, is stappe (i) tot (vii) vir die volgende dialisetye herhaal: 10, 15, 20, 30, 60, 180 en 240 minute.
- (ix) Nadat stap (viii) voltooi is, is al die stappe van (i) tot (viii) vir aftappunte 1, 2, 3, 5 en 6 herhaal.

Die onderskeie aftappunte stel die volgende oppervlaktes voor:

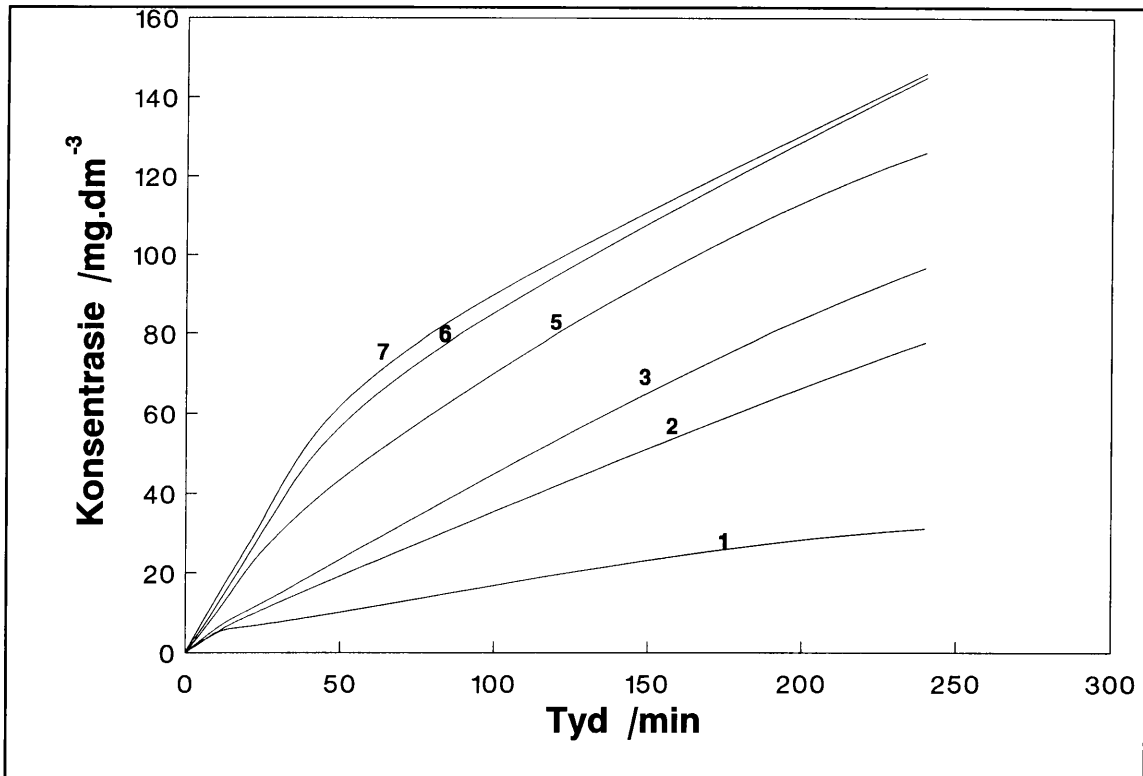
Tabel 5.3 Oppervlaktes van die onderskeie aftappunte.

Aftappunt nr.	Oppervlakte /mm ²
1	13.5
2	34.5
3	55.5
5	119,5
6	140.5
7	154.0

5.5.2 Resultate en bespreking

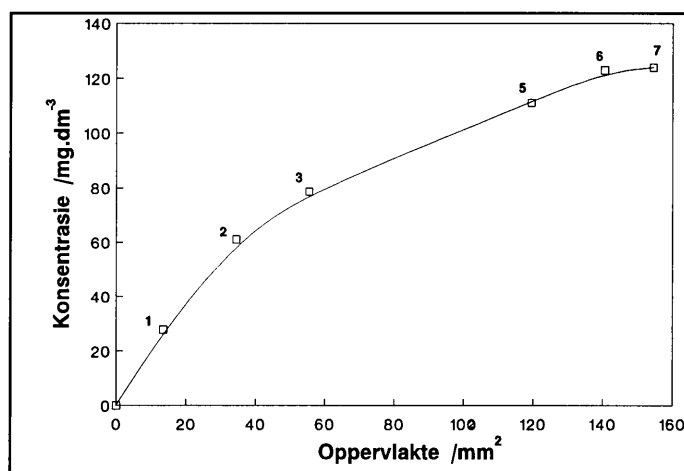
In figuur 5.14 is die toename in konsentrasie, van die verskillende dialise-oppervlaktes, in die dialiseerder, teen tyd gestip.

Uit figuur 5.14 kan daar duidelik gesien word dat die tempo van dialise toeneem met vergroting van die oppervlak van die membraan waaroor daar gedialiseer word. Daar kan verder gesien word dat, oor die eerste 50 minute van dialise, die toename in die konsentrasie, by aftappunte 5, 6 en 7, aanvanklik reglynig met tyd plaasvind. Die toename in konsentrasie, van aftappunte 1, 2 en 3, is ook reglynig maar vind daar in hierdie geval geen afplatting plaas nie. Die helling, oor die eerste 50 minute van dialise, in die geval van krommes 5, 6 en 7 is egter baie groter as dié van krommes 1, 2 en 3. Daar kan dus aangeneem word, dat vir die eerste 50 minute van dialise, die toename in konsentrasie vinniger is in die geval van die groter membraanoppervlaktes. Na 50 minute neem die helling van krommes 6 en 7 in so 'n mate af, dat die toename in konsentrasie nie groter is as in die geval van kromme 3 en 5 nie. (Die hellings van krommes 3, 5, 6 en 7 is gelyk aan mekaar na 50 minute van dialise.)



Figuur 5.14 Vergelyking tussen die verskil in tempo van dialise vir verskillende membraanoppervlakes. Elke kromme stel 'n ander oppervlakte voor oor verskillende tye.

Die konsentrasies van krommes 1 tot 7 is almal, by dialisetyd van 180 minute, afsonderlik teen membraanoppervlakte gestip. Die resultaat hiervan kan in figuur 5.15 gesien word.



Figuur 5.15 Vergelyking tussen die tempo van dialise vir die verskillende membraanoppervlaktes by 180 minute.

Hieruit kan daar gesien word dat daar 'n afplating in die konsentrasietoename plaasvind met die toename in membraanoppervlakte. As figuur 5.14 noukeurig bestudeer word, sal daar gesien word dat hierdie afplating tussen krommes 1 tot 6 oor die eerste 50 minute van dialise nie voorkom nie. As kromme 7 ook bygereken word, kan gesien word dat daar van die begin van dialise 'n afplating in die konsentrasietoename voorkom. Daar kan dus aangeneem word dat 'n groter membraanoppervlakte as dié van 6, geen voordele sal inhou nie. (Daar kan verder gesien word uit figure 5.13 en 5.14 dat hierdie dialiseerder handig te pas kan kom indien daar dialises gedoen moet word met verskillende analiete met verskillende konsentrasies.) Die laer konsentrasies kan by groter membraanoppervlaktes uitgevoer word, en die hoër konsentrasies by die aftappunte wat die kleiner membraan oppervlaktes teenwoordig is. Daar is verder waargeneem dat dit nie nodig is om die hele membraan te gebruik vir alle dialises wat gedoen moet word nie. Daar kan op die grootte van die membraanoppervlak besluit word op grond van die konsentrasie van die analiet wat bepaal moet word en die tyd waaroor daar gedialiseer moet word.

5.6 Verwysings

1. Van Staden JF, Van Rensburg A (1990) **Analyst 115**: 1049.
2. Fang Z (1993) **Flow Injection Separation and Preconcentration** VCH Verlagsgesellschaft mbH.
3. Ludgren D P (1960) **Ann. N.Y. Acad. Sci. 87**: 904.
4. Hall W W, Walton R W (1965) **Ann. N.Y. Acad. Sci. 130**: 504
5. Bernhardsson B, Martins E, Johansson G (1985) **Anal. Chim. Acta. 167**: 111
6. Baum E H (1960) **Ann. N.Y. Acad. Sci. 87**: 894.
7. Fusari S A, Dittmar D, Perrizo C H (1971) **Advances in Automated Analysis, Technicon International Congress 1970**, Volume two, Thurman Associates, Miami, pp 241 - 245.
8. Marshall GM , Van Staden JF (1992) **Anal. Instr. 20**: 79.

Hoofstuk 6

Reeksdialiseerders

6.1 Inleiding

In hoofstuk 5 is daar ondersoek ingestel na faktore wat dialise, in 'n enkel dialise-eenheid met 'n semi-deurlatende membraan, beïnvloed. In hierdie hoofstuk word daar gekyk na die faktore wat 'n invloed op die effektiwiteit van dialise het waar meer as een dialisemembraan in serie in 'n vloeisisteam geskakel is. Daar is tans nog baie min navorsing gedoen met dialiseerders wat in serie gekoppel is. Hier kan hoofsaaklik gekyk word na navorsing wat gedoen is deur Van Staden [1] met die gesamentlike bepaling van natrium, kalium en chloried in bloedserum. In hierdie navorsing wat gedoen is, is die faktore, wat dialise effektiwiteit beïnvloed, egter nie ondersoek nie. Daar is ander navorsing, ook deur Van Staden, gedoen waar 'n dialiseerder en 'n gasdiffusie-eenheid in serie geskakel was. [2] Ook in laasgenoemde geval is daar nie gekyk na enige faktore, wat dialise beïnvloed in serie geskakelde dialisesisteme, nie. In beide bogenoemde gevalle is die dialise/VIA-sisteme slegs vir analitiese doeleindes aangewend en is 'n diepte ondersoek na effektiwiteit nie uitgevoer nie.

6.2 Eksperimenteel

6.2.1 Reagense en apparaat

Analitiese graad reagense en dubbeld gedistilleerde water is gebruik.

- i. Reagense.*

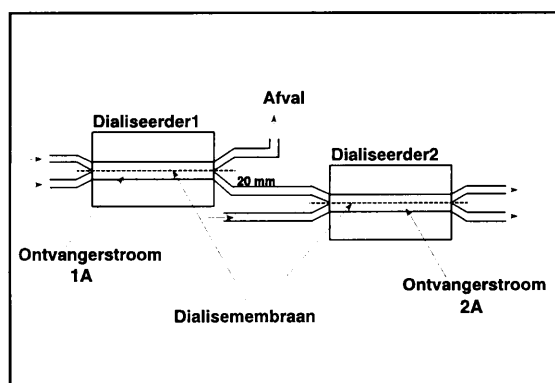
Stamoplossing metaalioon. Koper(II) is die metaalioon wat gebruik is vir al die eksperimente. Die konsentrasie van die metaalioon in hierdie stamoplossing was $2000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Dit is berei deur $15.717 \text{ g CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ (kopersulfaat pentahidraat) presies af te weeg en op te maak na 2000 cm^3 .

Buffer. 'n Asetaatbuffer is berei deur $136 \text{ g CH}_3\text{COONa}$ (natriumasetaat) af te weeg en op te los in dubbeld gedistilleerde water. Die oplossing is aangesuur deur gekonsentreerde asynsuur (99.7% CH_3COOH) by te voeg tot 'n finale pH van 5.9 waarna dit tot 1000 cm^3 opgemaak is.

Kleurreagens. Die oplossing is berei deur 0.120 g xilenoloranje af te weeg en op te maak na 1000 cm^3 .

ii. *Apparaat.*

Dialise-eenheid Daar is van meer as een dialise-eenheid in hierdie ondersoek gebruik gemaak. In die eksperimentele werk is twee verskillende sisteme vergelyk. In die eerste sisteem is van twee dialise-eenhede gebruik gemaak, waar die eerste sisteem

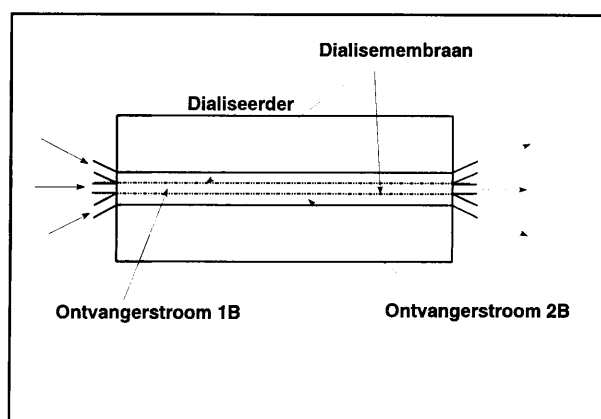


Figuur 6.1 Skematiese voorstelling van twee enkeldialiseerders in serie geskakel.

se ontvangerstroom opgetree het as die skenkerstroom van die volgende dialiseerder. 'n Skematiese voorstelling van hierdie sisteem word in figuur 6.1 gegee. In die figuur 6.1 kan gesien word dat die ontvangerstrome 1A en 2A genoem word. Daar sal in die res van die hoofstuk ook op hierdie wyse na hierdie ontvangerstrome verwys word. Die twee dialiseerders wat in hierdie eerste dialise-sisteem gebruik is, was identies aan mekaar. Die lengte van die dialiseerder se interne buis is 300 mm. Elke dialiseerder bestaan uit twee identiese Perspexblokke wat op mekaar pas. In die blokke is daar groefies in gesny van 0.5 mm diep en 0.5 mm breed. Die groefies van die twee blokke pas direk op mekaar. 'n Technicon tipe C dialisemembraan is tussen die blokke ingevoeg.

Die tweede dialisesisteem wat gebruik is, word in figuur 6.2 geïllustreer. In hierdie sisteem is daar nie, soos in die eerste dialisesisteem van twee enkeldialiseerders gebruik gemaak nie, maar van 'n dubbeldialiseerder. In die dubbeldialiseerder, soos in die geval van die eerste dialise-sisteem, tree die eerste ontvangerstroom ook op as die skenkerstroom vir die tweede ontvangerstroom. In figuur 6.2 word hierdie twee ontvangerstrome ook onderskeidelik aangetoon as ontvangerstroom 1B en ontvangerstroom 2B. Hierdie dialisesisteem bestaan ook uit twee Perspexblokke met groefies van 0.5 by 0,5 mm. In hierdie sisteem is daar egter 'n Perspexplaatjie tussen die twee blokke geplaas. Die dikte van die plaatjie is 0.5 mm. In die plaatjie is daar ook 'n gleuf reg deur gesny wat presies met die twee blokke se gleuwe ooreenkom. Twee Technicon tipe C membrane is aan weerskante van die Perspexplaat, tussen die twee blokke, ingevoeg. Daar is dus, soos in figuur 6.2 gesien kan word, drie buisies

reg bo-op mekaar gevorm. Die lengte van hierdie drie buisies wat in hierdie sisteem gevorm is, was 300 mm.



Figuur 6.2 Skematiese voorstelling van enkeldialiseerder met twee semi-deurlatendemembrane in serie geskakel.

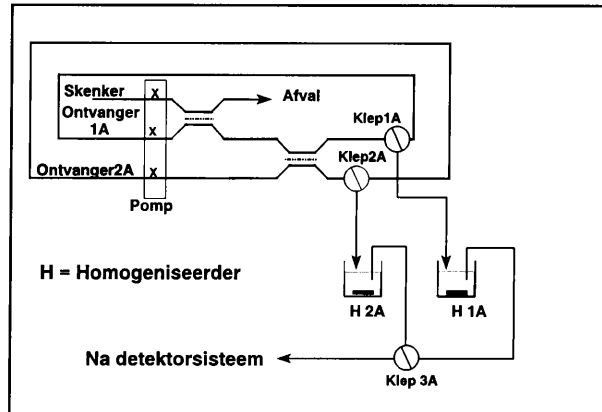
VIA sisteem. 'n Unicam 8625 UV\VIS met 'n Helmatipe 10 mm padlengte deurvloei is as detektor gebruik. Die aandrywingsisteem was Technicon pompbuise in samewerking met 'n Cenco peristaltiese pomp, wat teen tien revolusies per minuut opereer. Die vloeitempo in die buise is aangepas deur van verskillende grootte pompbuise gebruik te maak. Die analiet is, met behulp van 'n VICI tienpoort klep, in die sisteem ingespuut. Die spektrofotometer, sowel as al die kleppe wat gebruik is, was aan 'n rekenaar gekoppel wat die werking van die VIA-sisteem beheer het met behulp van die *FlowTek* program. [3]

6.2.2 Metode

Die metodes wat gebruik is, word in drie dele bespreek. Die eerste twee dele is die metodes wat by die twee verskillende dialisesisteme gebruik is. Die derde deel is die deteksiesisteem wat vir die analise van die dialisate afkomstig vanaf die dialisesisteme gebruik is.

Metode A: Die gebruik van twee in serie geskakelde enkeldialiseerders.

In figuur 6.3 is 'n skematiese voorstelling van die sisteem waar twee enkeldialiseerders



Figuur 6.3 Skematiese voorstelling van die twee enkeldialiseerders wat in serie geskakel is.

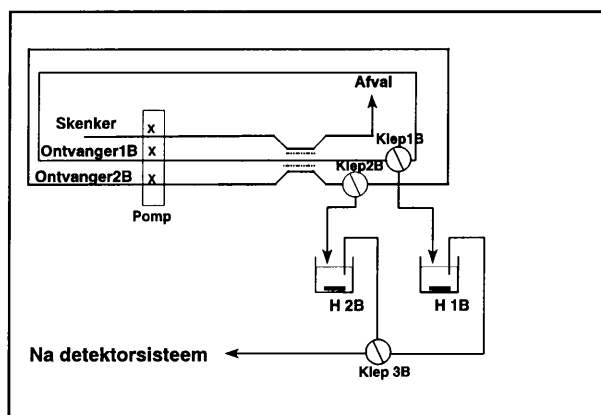
in serie geskakel is. Die metode wat gebruik is, word nou stapsgewys uiteengesit:

- (i) Ontvangerstrome 1A en 2A is vol water gepomp en is afgesluit om twee lusse van $4210 \mu\text{l}$ elk te vorm. Die koperoplossing van $300 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ is toegelaat om tot net voor die dialise-eenheid te beweeg, waar dit gestop is.
- (ii) Die pomp is aangeskakel en die koperoplossing is deur die dialise-eenheid gepomp. Die vloeitempo's in die skenker- en die twee ontvangerstrome was $3.9 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$.
- (iii) Na 5 minute is beide kleppe 1A en 2A geskakel sodat die dialisate in ontvangerlusse 1A en 2A na die homogeniseerders 1A en 2A onderskeidelik vervoer word.
- (iv) Die dialisate is gehomogeniseer vir 2 minute.

- (v) Klep 3A is sodanig geskakel dat eers die monster van homogeniseerder 2A na die deteksiesisteen afgevoer word en daarna die monster van homogeniseerder 1A. (Die metode van deteksie sal in metode C bespreek word.)
- (vi) Stappe (i) tot (v) is herhaal vir dialisetye van 10, 15, 20, 30, 60, 180, 240, 540, 720 en 1440 minute.
- (vii) Stappe (i) tot (vi) is vir 'n vloeitempo van $2.5 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, in die skenkerstroom en die twee ontvangerstrome, herhaal.

Metode B: Dubbeldialiseerder met dialisekanale direk onder mekaar in serie verbind.

In figuur 6.4 is 'n skematiese voorstelling van die



Figuur 6.4 Skematiese voorstelling van die dubbeldialiseerder met dialisekanale in serie verbind.

dubbeldialiseerdersisteen.

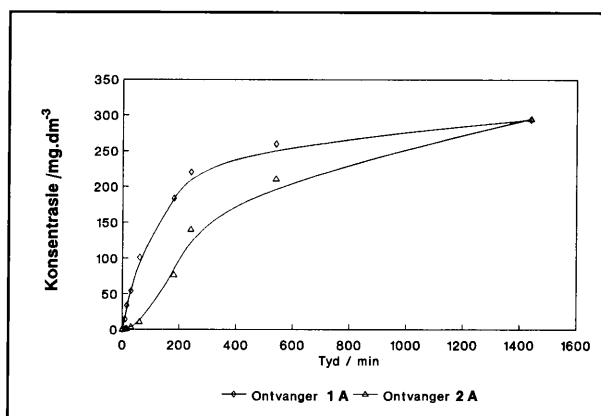
- (i) Water is in ontvangerstrome 1B en 2B gepomp. Die strome is afgesluit om ontvangerluse 1B en 2B te vorm wat elk 'n volume van $4210 \mu\text{l}$ het. Die koper(II)oplossing is gepomp tot net voor die dialisesisteen. Die vloeitempo's in die skenker- en die twee ontvangerstrome was $3.9 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$.

In figuur 6.5 is die skematiese voorstelling van hierdie deteksiesisteesem. Die waarde van y in figuur 6.5 het gewissel na gelang van die konsentrasievlak wat ge-analiseer word. Hoe hoër die konsentrasievlak, hoe hoër die waarde van y . Die volumes van die lusse op klep 4 was onderskeidelik 10 en 40 $\mu\ell$. Vir hoër konsentrasievlakke is die 10 $\mu\ell$ lus gebruik en vir laer konsentrasievlakke is 40 $\mu\ell$ lus. Klep 3 is dieselfde klep as kleppe 3A en 3B in figure 6.3 en 6.4 onderskeidelik. Netso is homogeniseerder 1 en 2 in figuur 6.5 dieselfde as homogeniseerders 1A en 2A in figuur 6.3 en homogeniseerders 1B en 2B in figuur 6.4. Die monsters vanaf die homogeniseerders is gepomp deur klep 4. Klep 4 is geskakel en is die monster in die draerstream ingespuut. Die monsterprop in die draerstream is na eers die buffer- en daarna na die kleurreagensstroom gepomp. In die kleurreagensstroom het die kleurreaksie plaasgevind wat deur die spektrofotometer gelees en deur die rekenaar verwerk is. Die spektrofotometer het die absorpsie van die koper/xilenoloranjekompleks by 574 nm gelees.

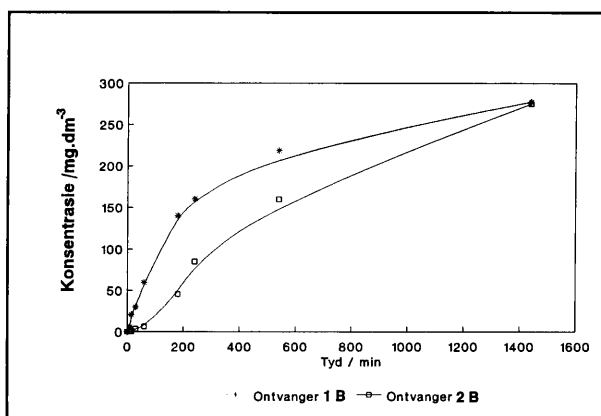
6.2.3 Resultate en bespreking

Hierdie eksperimente is by twee verskillende vloeitempo's uitgevoer. Die resultate en die tendense wat verkry is was egter dieselfde en word slegs die resultate van die 2.50 $\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ vloeitempo's weergegee.

In figuur 6.6 word die verandering in die koperkonsentrasie, in die twee opeenvolgende ontvangerstrome (1A en 2A) van die twee enkeldialiseerders, wat in serie gekoppel is, getoon. In figuur 6.7 word die verandering in die koperkonsentrasie, in die opeenvolgende ontvangerstrome (1B en 2B) van die enkele dialiseereenheid met die twee semi-deurlatende



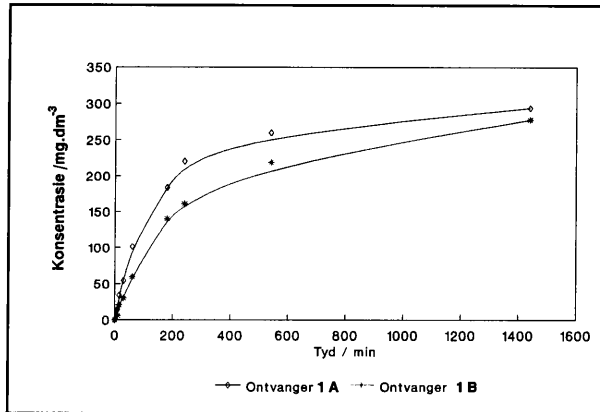
Figuur 6.6 Voorstelling van die toename in die koperkonsentrasie van die ontvangerstrome van die geskeide dialiseerders teen tyd.



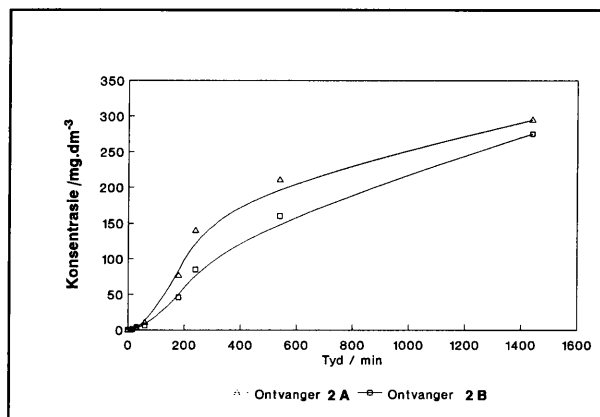
Figuur 6.7 Voorstelling van die toename in die koperkonsentrasie in die ontvangerstrome van die dubbeldialiseerder.

membrane, getoon. Daar kan duidelik uit figure 6.6 en 6.7 gesien word dat die vorm van die grafieke vir die twee tipes dialise-eenhede dieselfde is. Daar kan verder uit beide die grafieke gesien word dat die toename in die koperkonsentrasie vir die ontvangerstrome 1A en 1B oor die eerste 200 minute van dialise reglynig toeneem terwyl die koperkonsentrasies van ontvangerstrome 2A en 2B eers na 'n verloop van 20 minute dialisetyd begin toeneem. Die rede hiervoor kan as volg verduidelik word. In die ontvangerstrome 1A en 1B is die koperkonsentrasies nul by dialisetyd gelyk aan nul. Daar is dus geen konsentrasiegradiënt tussen onderskeidelik ontvangerstrome 1A en 2A en tussen

1B en 2B nie. Met die verloop van dialisetyd neem die konsentrasies in ontvangerstrome 1A en 1B egter toe. Soos daar uit die grafieke gesien kan word, is die konsentrasies in hierdie strome nog baie laag en dus ook die konsentrasiegradiënt tussen die ooreenstemmende tweede ontvangerstrome. Dit is die oorsaak vir die geleidelike toename in die konsentrasie in ontvangerstrome 2A en 2B oor die eerste 20 minute van dialise. Daar kan uit figure 6.6 en 6.7 gesien word dat die toename in die koperkonsentrasie reglynig is tussen die dialisetye van 20 minute tot 200 minute vir die ontvangerstrome 1A, 2A, 1B en 2B. Om hierdie rede sal ook die konsentrasiegradiënt tussen ontvangerstrome 1A en 2A en tussen 1B en 2B reglynig toeneem oor hierdie dialisetydinterval. Dit het tot gevolg dat die toename in die konsentrasie in ontvangerstrome 2A en 2B ook reglynig oor hierdie tydinterval sal toeneem. Na hierdie 200 minute van dialise, plat die toename in konsentrasie in die al die ontvangerstrome af. Die rede hiervoor is omdat die konsentrasie in ontvangerstrome 1A en 1B sodanig toegeneem het dat die konsentrasiegradiënt tussen hierdie twee strome en die skenkerstrome kleiner geword het. Dit veroorsaak 'n afname in konsentrasietoename in hierdie twee ontvangerstrome. Alhoewel die toename in die konsentrasie in die ontvangerstrome 2A en 2B ook afneem, bly die helling van hierdie twee krommes nog groter as die van ontvangerstrome 1A en 1B totdat die konsentrasies in al die ontvangerstrome by 'n dialisetyd van 1440 minute nader na $300 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$, wat die konsentrasie van die skenkerstrome is. Die rede vir hierdie vinniger toename na 200 minute van dialise in die geval van ontvangerstrome 2A en 2B as in die geval van ontvangerstrome 1A en 1B, is omdat die konsentrasiegradiënt vir ontvangerstrome 1A en 1B en die skenkerstrome nou vinniger afneem as die konsentrasiegradiënt tussen ontvangerstrome 1A en 2A en tussen 1B en 2B.



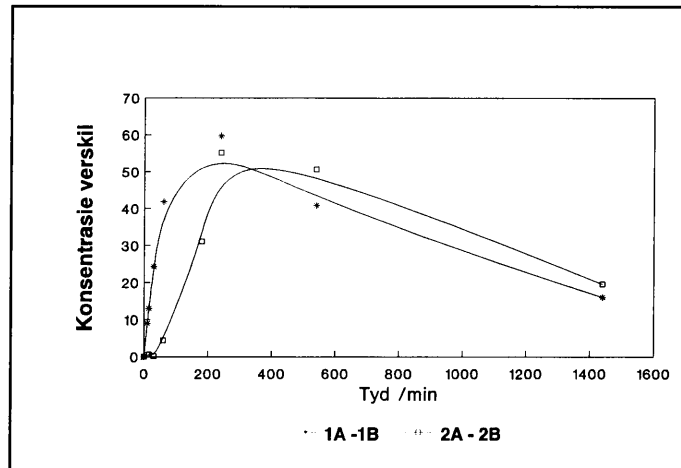
Figuur 6.8 'n Vergelyking tussen die konsentrasie toename van ontvangerstrome 1A en 1B.



Figuur 6.9 'n Vergelyking van die toename in konsentrasie van die ontvangerstrome 2A en 2B.

Die toename in die konsentrasie is ook vergelyk tussen die ooreenstemmende ontvangerstrome van die twee verskillende dialise-sisteme. (Kyk figuur 6.8 en 6.9.) Uit figuur 6.8 kan gesien word dat ontvanger 1A vinniger toeneem as ontvanger 1B. Die rede is die volgende: Volledige dialise oor die totale lengte van die dialiseerder vind vanaf die skenkerstroom na ontvangerstroom 1A plaas. In die geval van ontvangerstroom 1B is daar 'n differensiële diffusie vanaf die begin van die membraan na ontvangerstroom 2B. Uit figuur 6.9 kan gesien word dat ontvangerstroom 2A vinniger toeneem as ontvangerstroom 2B.

Die rede is die volgende: Volledige dialise het oor die totale lengte van membraan na ontvangerstroom 2A plaasgevind en het die monstersone verder volledig vermeng. By ontvangerstroom 2B is daar 'n differensiële dialise vanaf die begin van die membraan. Om hierdie rede is die voorste sone se konsentrasie kleiner. Hierdie resultate kan ook in figuur 6.10 gesien word.

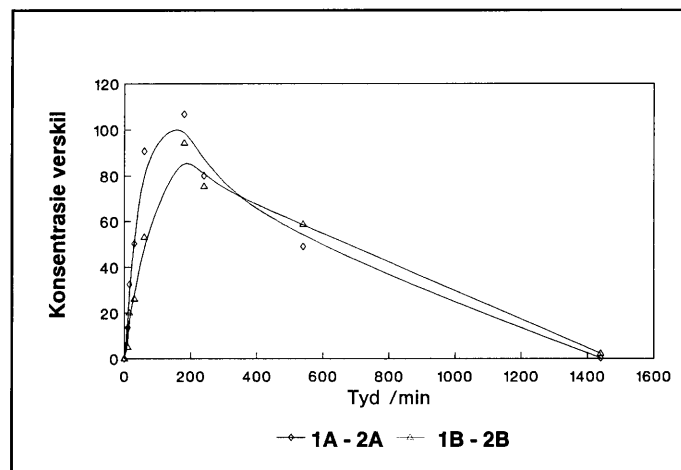


Figuur 6.10 Skematiese voorstelling van die verskil in konsentrasie tussen die ooreenstemmende ontvangerstrome van die twee dialise-sisteme.

Die twee krommes wat in figuur 6.10 vertoon word, is die verskil tussen die konsentrasies van ontvangerstrome 1A en 1B en ontvangerstrome 2A en 2B. Die draaipunt van kromme 1A - 1B is by 'n dialisetyd van ongeveer 200 minute, terwyl die draaipunt van kromme 2A - 2B by 'n dialisetyd van 400 minute is. Die rede vir die verskil in die draaipunte kan as volg verduidelik word. In die geval van ontvangerstroom 2A, het daar wel volledige dialise oor die hele membraan plaasgevind terwyl daar in die geval van ontvangerstroom 2B slegs differensiële dialise plaasgevind het. Dit veroorsaak wel dat die konsentrasietoename in ontvangerstroom 2A vinniger is as in ontvangerstroom 2B. Die konsentrasietoename, onafhanklik van die tempo van die toename, begin in ontvangerstroom 2B voordat dit in

ontvangerstroom 2A sal kan begin. Die rede hiervoor is die afstand tussen die twee enkeldialiseerders in metode A. Dit sal dus 'n sekere dialisetyd neem vir ontvangerstroom 2A om 'n hoër konsentrasie as ontvangerstroom 2B te verkry. Dit kan ook waargeneem word in figuur 6.10 by dialisetyd tussen 0 en 50 minute. Om hierdie rede sal dit dus langer neem om die draaipunt te bereik.

Daar is verdere verwerking van die resultate gedoen deur die konsentrasie-verskil te verkry, by die ooreenstemmende tye, tussen die konsentrasies van ontvangerstrome 1A en 2A. Dieselfde is ook gedoen vir ontvangerstrome 1B en 2B. Hierdie verskil in konsentrasies is geplot en kan in figuur 6.11 gesien word.



Figuur 6.11 Skematiese voorstelling van die verskil in konsentrasies van die ontvangerstrome van die twee dialisesisteme.

Uit die grafiek is dit duidelik dat, vir beide die dialise-sisteme, die verskil in konsentrasie tussen die ontvangerstrome skerp toeneem van 0 tot 200 minute dialisetyd. By ongeveer 200 minute word 'n maksimum bereik. Hierdie verskil in konsentrasie neem weer geleidelik af na 200 minute tot by 1440 min waar daar byna geen verskil meer is nie. Die rede vir hierdie verskynsel val saam met grafieke in figure 6.6 en 6.7 se verduideliking van die

konsentrasiegradiënt wat verskil tussen die twee ontvangerstrome van die twee dialise-sisteme. By tyd gelyk aan 0, is die konsentrasiegradiënt tussen die skenkerstrome en ontvangerstrome 1A en 1B baie groot terwyl daar geen konsentrasiegradiënt tussen ontvangerstrome 1A en 2A en tussen ontvangerstrome 1B en 2B is nie. Om hierdie rede sal die konsentrasie in ontvangerstrome 1A en 1B baie vinnig toeneem terwyl die konsentrasie in ontvangerstrome 2A en 2B geen toename sal toon nie. Tussen die dialisetye 0 en 200 minute neem die konsentrasies in die ontvangerstrome 1A en 1B skerp toe. Saam met hierdie toename in konsentrasie sal ook die konsentrasiegradiënt tussen, ontvangerstrome 1A en 2A en ontvangerstrome 1B en 2B toeneem. Soos wat die konsentrasie in ontvangerstrome 1A en 1B toeneem, neem die konsentrasiegradiënt tussen die skenkerstrome en hierdie twee ontvangerstrome af. Gevolglik sal die tempo van dialise ook begin afneem met die afname van die konsentrasiegradiënt. Die konsentrasiegradiënt tussen die twee pare ontvangerstrome is egter nou redelik groot en veroorsaak dit 'n toename in die tempo van dialise vanaf die eerste- na die tweede ontvangerstroom vir beide die twee dialise-sisteme. Om hierdie rede is daar 'n draaipunt in die krommes , van die verskil in konsentrasie teen tyd soos verduidelik, by 200 minute dialisetyd.

6.3 Verwysings

1. Van Staden JF (1991) **Talanta** **38**: 1033.
2. Van Staden JF (1992) **Anal. Chim. Acta.** **261**: 453.
3. Marshall GD, Van Staden JF (1992) **Anal. Instr.** **20**: 79.

Hoofstuk 7

Verdunning met behulp van dialise

7.1 Inleiding

Verdunning van monsters met die hand is stadig en tydrowend terwyl foute maklik kan insluip en die resultate wat verkry word nie altyd so presies is nie. Een van die grootste voordele van VIA is die hoë tempo waarteen monstervoorbereiding in die dialiseproses uitgevoer kan word. Monsterverdunning in VIA-sisteme, met behulp van dialise, is egter 'n metode om die probleme, wat met handmetodes ondervind word, te oorkom.

Verskeie tegnieke is aangewend om monsters outomaties in VIA-sisteme te verdun. Die volgende metodes is voorbeelde hiervan.

- (i) Saamvloeiendes [1-3],
- (ii) gradiëntkamers [4,5],
- (iii) sonemonsterneming [2],
- (iv) kaskadesisteme [6],
- (v) dialise [7],
- (vi) stroomverdeling [8] en
- (vii) vermengingskamers. [9,10]

Volgens Whitman *et. al.* [6] kom die volgende tekortkominge by elk van die volgende tegnieke voor:

Saamvloeiendes: Die beperking hier is dat die vloeitempo verhoudings nie laer as 1:20 kan gaan nie.

Dialise: Dialisemembranne is maklik breekbaar.

Gradiëntkamers: Reagensverbruik is hoog en die monsternemingstempo is laag.

Sonemonsterneming: 'n Hoë presisie van tydneming word vereis en daarom word rekenaar gekoppelde kleppe aanbeveel vir hierdie tegniek.

Die outeurs van [6] het van die kaskadesistiem gebruik gemaak. 'n Verdunningsfaktor van ongeveer 500 is deur die outeurs van [6] verkry.

In hierdie hoofstuk is dialise as aanlyn verdunningsmetode ondersoek. Die redes vir die keuse van dialise was die volgende:

- (i) Dialise is 'n uitstekende metode van monstervoorbereiding veral as monsters gekleurd is of vaste deelties in suspensie bevat. Steurende spesies kan uit die monster met behulp van dialise verwyder word en kan die analiet steuringsvry bepaal word.
- (ii) 'n Dialisesistiem kan baie maklik aanlyn in 'n vloei-inspuitsistiem gekoppel word.
- (iii) Dialise membrane, wat goed opgepas word, kan baie lank funksioneer sonder dat die membraan vervang moet word.

7.2 Eksperimenteel

7.2.1 Reagense en apparaat

Analitiese graad reagense en dubbeld gedistilleerde water is gebruik.

i. Reagense

Metaalioon. Cu^{2+} -ioon is in al die eksperimente as metaalioon gebruik. Die konsentrasies van die metaalioon was oor die algemeen relatief hoog. Gevolglik is daar nie van 'n stamoplossing gebruik gemaak nie. Vir elke oplossing is die metaalsout apart afgeweeg en voorberei. Die metaalsout wat gebruik was, is $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (kopersulfaat pentahidraat).

Bufferoplossing. Die asetaatbuffer is berei deur 136 g CH_3COONa (natruimasetaat) af te weeg en in water op te los. Die oplossing is aangesuur tot by 'n pH van 5.9 deur gekonsentreerde asynsuur (99.7% CH_3COOH) by te voeg. Hierdie oplossing is dan na 1000 cm^3 opgemaak.

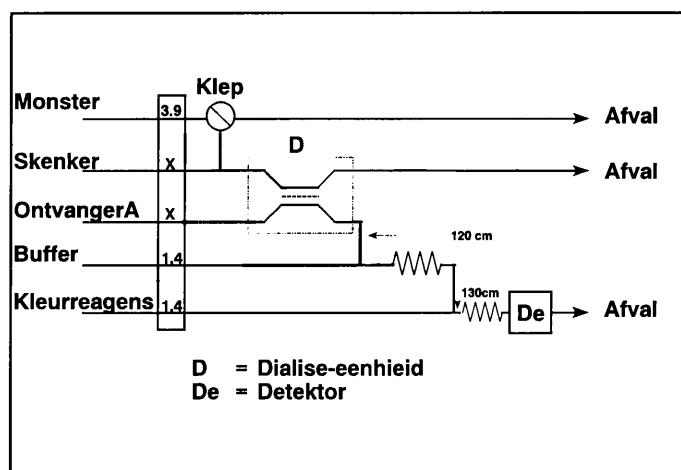
Kleurreagens. 0.120 g Xilenoloranje is afgeweeg en na 1000 cm^3 opgemaak.

ii. Apparaat

Dialise-eenheid. In hierdie eksperiment is twee verskillende dialise-eenhede gebruik naamlik 'n enkeldialiseerder en twee enkeldialiseerders wat in serie geskakel is. Die drie enkeldialiseerders wat gebruik is, was identies. Die enkeldialiseerders het bestaan uit twee identiese Perspexblokke, wat op mekaar gepas het. In elkeen van die blokke is daar gleuwe, van 0.5 mm by 0.5 mm, wat sodanig ingesny was dat die blokke spieëlbeelde van mekaar gevorm het en die gleufies direk opmekaar gepas het. (daar is dus 'n buis van 0.5 mm breed en 1.0 mm diep tussen die blokke gevorm.) 'n Technicon tipe C dialisemembraan is tussen die blokke geplaas. Hierdie membraan het tot gevolg dat die buis wat tussen die twee blokke gevorm is, nou in

twee buisies verdeel word van 0.5 mm by 0.5 mm. Die dialisemembraan is die enigste fisiese skeiding tussen die twee buisies. Die lengte van die twee buisies was elk 300 mm.

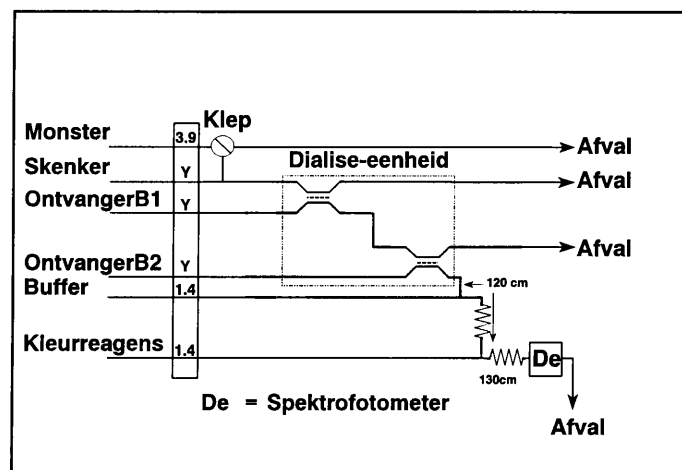
VIA-sisteem. 'n Unicam 8625 UV/VIS spektrofotometer is as detektor gebruik. Die VIA-sisteem is gebaseer op die sisteem in hoofstuk 4. Technicon pompbuisie en 'n Cenco peristaltiese pomp, wat teen 10 revolusies per minuut opereer, is gebruik om die vloei in al die verskillende kanale konstant te hou. Verskillende groottes pompbuisie is gebruik om die korrekte vloeitempo in die verskillende kanale te verkry. Tygonbuisie is in die vermengingsisteem gebruik. Die lengtes en deursnee van al die buise is aangepas vir elke afsonderlike eksperiment en word genoem by die betrokke metode. Figuur 7.1 toon die VIA-sisteem skematies met die dialise-eenheid wat uit slegs een enkeldialiseerder bestaan.



Figuur 7.1 Skematiese voorstelling van die VIA-sisteem waar daar van slegs een enkeldialiseerder gebruik gemaak word.

Al die buise in die vermengingsisteem se interne deursnee was 0.762 mm. Die monster is in die skenkerstroom ingespuut met behulp van 'n VICI tienpoort klep.

Die volumes wat ingespuut is, word onderskeidelik vir elke eksperiment by die metodes aangetoon. Die inspuutklep was aan 'n rekenaar gekoppel wat tot gevolg gehad het dat die skakelings tyd van die klep baie presies beheer kon word. Die spektrofotometer was ook aan die rekenaar gekoppel. Die rekenaar het die sein vanaf die detektor met die hulp van die *FlowTek* program verwerk. [1] Die VIA-sisteem, met 'n dialise-eenheid saamgestel uit twee enkeldialiseerders in serie, word skematies in figuur 7.2 voorgestel.



Figuur 7.2 Skematiese voorstelling van VIA-sisteem met twee enkeldialiseerders in die dialise-eenheid.

In figure 7.1 en 7.2 is daar spesifieke kodes aan die onderskeie ontvangerstrome gegee. Hierdie kodes sal in die res van die bespreking so gebruik word. Die waardes van X en Y sal by elke eksperiment se resultate aangedui word.

7.2.2 Metode

Die eerste deel van hierdie eksperiment handel oor die invloed wat dispersie op die oppervlak onder 'n piek het. Die rede hiervoor was dat die kalibrasiekromme, wat vir die bepaling van die Cu^{2+} -ioon konsentrasie in die ontvangerstrome, opgestel moes word, sonder 'n

dialiseerder gedoen moes word. Dit sou onmoontlik wees om met piekhoogte te werk aangesien dit baie moeilik sou wees om die dispersie van die monsters met die dialiseerder en dié daarsonder op dieselfde vlak te kry. Daar is toetse met konsentrasies van koperoplossings tussen 10 en 120 mg.dm⁻³ gedoen. Die monsterlusse se volumes op die klep was onderskeidelik 10 en 40 $\mu\ell$. Die hele reeks van verskillende konsentrasies is geanaliseer met die sisteem soos beskryf in figure 7.1 en 7.2. In hierdie geval was daar egter nie van 'n dialise-eenheid gebruik gemaak nie, maar is die monster in 'n draerstream ingespuut wat in die bufferstream ingevloei het. Hierna is daar nog 50 cm 0.762 mm en 30 cm 0.635 mm buise in die sisteem voor die bufferstream ingelas wat aanleiding tot 'n vergrote dispersie gegee het. Hierna is die piekareas, wat verkry is, tussen die sisteem waar die dispersie klein was en die sisteem waar die dispersie groter was, vergelyk (met beide die twee monstervolumes op die klep).

Die uitleg van die metode in die eksperimentele werk, word in twee dele gegee. Die eerste deel is die eksperimente wat uitgevoer is met die dialise-eenheid wat uit een enkeldialiseerder bestaan het. Die tweede deel is die eksperimente wat uitgevoer is met die dialise-eenheid wat saamgestel is uit twee enkeldialiseerders wat in serie geskakel is.

Metode A: Een enkeldialiseerder.

In hierdie eksperimente is daar verskeie konsentrasies koper(II)ioon oplossings gebruik. Daar is ook verskillende vloeitempo's vir die skenker- en ontvangerstream gebruik (die waarde van X in figuur 7.1) Die vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstream is aan mekaar gelyk gestel, maar die waarde van X het van eksperiment tot eksperiment gewissel. Die verskillende vloeitempo's wat vir elke eksperiment eksperiment gebruik is, kan in tabel 7.1 gesien word. Die koperoplossing is in die skenkerstream ingespuut. Die koperoplossingprop

beweeg deur die dialiseerder waar dialise plaasvind. Die dialisaat word deur die ontvangerstroom na die bufferstroom vervoer. Die bufferstroom vervoer die dialisaat verder tot in die kleurreagensstroom. In die kleurreagensstroom vind 'n kleurreaksie plaas. Die intensiteit van die produk wat met die kleurreaksie gevorm word, is 'n indikasie van die konsentrasie van die koperoplossing. Die kleurintensiteit word deur die spektrofotometer, by 574 nm waargeneem. Die spektrofotometer stuur 'n sein na 'n rekenaar waar dit met behulp van die *FlowTek* program verwerk word. [11]

Tabel 7.1 Die vloeitempo's en monsterlusvolumes van die onderskeie eksperimente vir metode A.

Eks Nr.	Vloeitempo skenker- en ontvangerstroom	Monsterlus volume
1	0.42 cm ³ .min ⁻¹	83.845 μl
2	0.80 cm ³ .min ⁻¹	83.845 μl
3	1.20 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl
4	1.60 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl
5	2.00 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl
6	2.90 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl
7	3.90 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl

Metode B: Twee enkeldialiseerders in serie geskakel.

Hierdie metode is identies aan die metode wat in A beskryf is, met die uitsondering van 'n tweede dialiseerder wat hier in serie met die eerste dialiseerder geskakel is. (Kyk figuur 7.2) Die gevolg hiervan is dat die monsterprop in die skenkerstroom na die eerste ontvangerstroom (B1) dialiseer. Hierdie ontvangerstroom (B1) tree nou as skenkerstroom vir ontvangerstroom B2 op. Die dialisaat van ontvangerstroom B2 word na die bufferstroom

vervoer. Die res van die metode is identies aan die beskryf in metode A. Die verskillende vloeitempo's en monsterlusvolumes kan in tabel 7.2 gesien word.

Tabel 7.2 Verskillende vloeitempo's en monstervolumes gebruik.

Eks. Nr.	Vloeitempo van skenker- en ontvangerstrome	Monster volume
1	0.42 cm ³ .min ⁻¹	83.845 μl
2	0.80 cm ³ .min ⁻¹	83.845 μl
3	1.20 cm ³ .min ⁻¹	106.647 μl
4	1.60 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl
5	2.00 cm ³ .min ⁻¹	124.888 μl
6	2.90 cm ³ .min ⁻¹	506.139 μl
7	3.90 cm ³ .min ⁻¹	506.139 μl

7.2.3 Resultate en bespreking

Die eerste resultate handel oor die ondersoek na die invloed van dispersie op die piekarea. Daar is gevind dat met die toename in dispersie die piekhoogte afneem maar dat die piekarea konstant bly. Daar word dus met piekarea gewerk, om die kalibrasiekromme op te stel, om sodoende die Cu²⁺-ioon konsentrasie in die dialisate te bepaal.

In al die eksperimente is die persentasie dialise bepaal deur vergelyking 3.22 naamlik:

$$\% \text{ Dialise} = \frac{C_0}{C_s} \times 100$$

C_0 is in hierdie geval die Cu^{2+} -ioon konsentrasie wat in die skenkerstroom ingespuut word. C_s is die Cu^{2+} -ioon konsentrasie wat in die ontvangerstroom A gemeet is in die geval van een dialiseerder of dit is die Cu^{2+} -ioon konsentrasie wat gemeet is in ontvangerstroom B2 in die geval waar daar van twee dialiseerders gebruik gemaak is.

Resultate van eksperimente gedoen volgens metode A.

Die resultate van elke afsonderlike eksperiment is as volg verwerk:

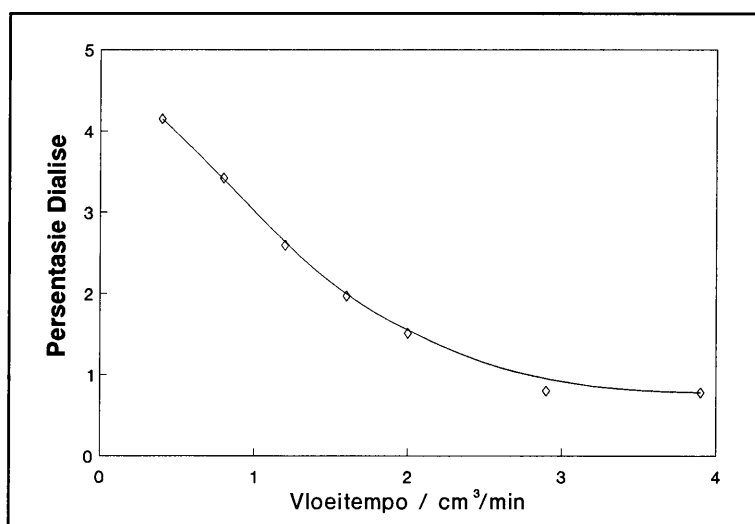
Vir elke eksperiment is daar vyf verskillende konsentrasies van die Cu^{2+} -ioonoplossing gebruik wat in die skenkerstroom ingespuut is. Elke konsentrasie is vyf keer ge-analiseer. Daar is met ander woorde vyf en twintig bepalinge per eksperiment gedoen. Die gemiddelde persentasie dialise van elke konsentrasie is gebruik om die gemiddelde persentasie dialise vir 'n spesifieke eksperiment te bereken. Hierdie laaste gemiddelde persentasie dialise is die persentasie wat vir elke eksperiment weergegee sal word. Die RSA waarde is ook vanuit hierdie laasgenoemde persentasie bepaal. (Kyk tabel 7.3)

Die meetgrens in tabel 7.3 is konsentrasiegrense wat vir elke eksperiment gebruik is. Hierdie konsentrasies is die konsentrasies wat in die skenkerstroom ingespuut is. Die rede waarom daar nie waardes aan die buitekante van hierdie grense gekies is nie, was omdat die konsentrasie van die dialisaat in ontvangerstroom A te hoog of te laag was om 'n goeie presisie vir die analise te verkry. Daar kan van ander deteksiemetodes gebruik gemaak word om laer of hoër konsentrasies te bepaal, maar was dit was nie die doel van hierdie eksperimente om spesifiek hoë- of laevlak bepalinge te doen nie.

Tabel 7.3 Resultate van die eksperimente gedoen met een dialiseerder.

Eks nr.	Meetgrens /mg.dm ⁻³	Vloeiempo /cm ³ .min ⁻¹	Persentasie dialise	% RSA
1	500-2000	0.42	4.15	2.7
2	500-3000	0.80	3.42	2.6
3	750-3150	1.20	2.59	2.9
4	750-4000	1.60	2.02	2.3
5	1000-4500	2.00	1.71	2.5
6	2000-9000	2.90	0.839	2.6
7	2500-9000	2.90	0.780	2.6

Die persentasie dialise in tabel 7.3 word skematies in figuur 7.2 uiteengesit waar dit teen die vloeiempo van die skenker- en ontvangerstrome gestip is.



Figuur 7.3 Grafiese voorstelling van die invloed van vloeiempo op verdunning met dialise.

Dit is duidelik waarneembaar uit figuur 7.3 dat die persentasie dialise eksponensieel afneem met toename in vloeiempo van die skenker- en ontvangerstrome. Daar kan verder gesien

word dat indien die vloeitempo van die skenker- en ontvangerstrome hoër as $3.90 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ verhoog gaan word, dit geen noemenswaardige invloed op die persentasie dialise sal hê nie.

Resultate van eksperimente gedoen volgens metode B.

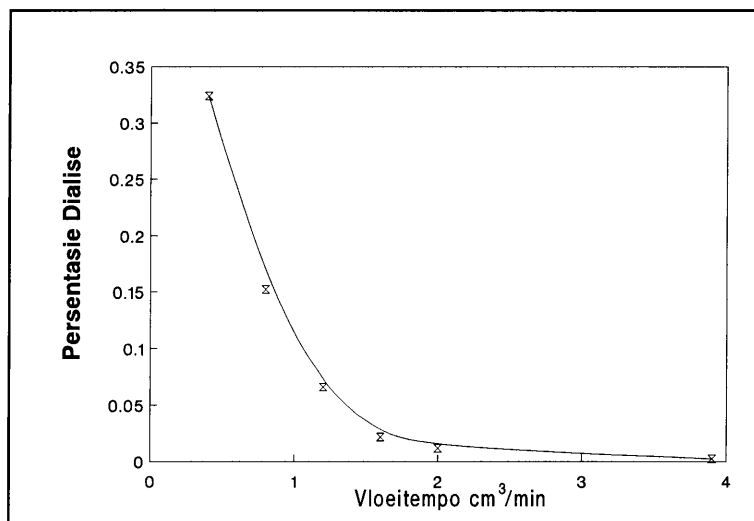
Hierdie resultate is op presies dieselfde wyse verwerk as in die geval van die eksperimente in metode A. In hierdie geval is die Cu^{2+} -ioonkonsentrasie van die dialisaat egter in ontvangerstroom B2 bepaal. Die resultate kan in tabel 7.4 gesien word.

Tabel 7.4 Resultate van eksperimente gedoen met twee dialiseerders.

Eks nr.	Meetgrens / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	Vloeitempo / $\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$	Persentasie dialise	% RSA
1.	10000-30000	0.42	0.324	4.8
2.	15000-40000	0.80	0.152	5.3
3.	20000-60000	1.20	0.066	5.5
4.	30000-60000	1.60	0.020	5.6
5.	35000-60000	2.00	0.012	5.0
6.	40000-60000	2.9	0.004	5.9
7.	40000-60000	3.9	0.003	5.9

Die meetgrens in tabel 7.4 is weereens konsentrasiegrense wat vir elke eksperiment gebruik is. Hierdie konsentrasies is die konsentrasie wat in die skenkerstroom ingespuut is. Soos daar in tabelle 7.3 en 7.4 gesien kan word, is die konsentrasies waar een dialiseerder gebruik is, heelwat laer as die konsentrasies wat by twee opeenvolgende enkeldialiseerders verkry is. Dit is ook duidelik waarneembaar uit tabelle 7.1 en 7.2 dat vir hoër vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstrome, die konsentrasies wat ingespuut moes word, ook hoër gemaak moes word. Een van die oorsake vir die hoë RSA-waardes in die geval van vloeitempo's 2.9

en $3.9 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, in tabel 7.4, is omdat die konsentrasie van die monster nie maklik verhoog kan word nie, as gevolg van die oplosbaarheid van kopersulfaat in water. Verder is dit duidelik uit tabel 7.4, dat die RSA-waardes wat verkry is, ongeveer dubbeld die RSA waardes is wat in tabel 7.3 verkry is. Die rede hiervoor is omdat daar van twee dialiseerders gebruik gemaak word. Dit was soms ook moeilik om die lae vlakke te bepaal met behulp van die kleurreaksiemetode. Om hierdie rede sal gesien word dat die RSA waardes baie hoër word waar die skenker- en ontvangerstrome se vloeitempo's hoog raak. In figuur 7.3 word die resultate van metode B grafies voorgestel.



Figuur 7.4 Grafiese voorstelling van die resultate verkry met die verdunning met twee dialiseerders.

Dit is duidelik uit figuur 7.4 dat die persentasie dialise eksponensieel afneem met die toename in die skenker- en ontvangerstrome se vloeitempo's. Daar word ook waargeneem dat die persentasie dialise nie baie met verhoging in die vloeitempo van die skenker- en ontvangerstrome sal afneem nie. Indien die vloeitempo egter verlaag word, neem die persentasie dialise dienooreenkomstig toe.

Dit is dus duidelik uit bogenoemde resultate dat die bepaalde opstelling van die dialise-eenheid en die verandering van die verskillende parameters, soos die vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstrome en die monstervolume, daartoe kan lei dat verdunning deur dialise vir enige eksperimentele behoefte aangepas kan word. Indien die maksimum en minimum persentasie dialise uit tabelle 7.3 en 7.4 vergelyk word, word die volgende persentasie intervale verkry:

Twee dialiseerders: 0.003 - 0.324%

Een dialiseerder: 0.780 - 4.15%

Daar is dus 'n gaping tussen 0.324 en 0.780%. Dit sou nie help om die vloeitempo's van beide die skenker- en ontvangerstrome in metode A te verminder nie want soos uit figuur 7.3 gesien kan word, neem die persentasie dialise nie noemenswaardig af met verhoging van die vloeitempo bo $3.90 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ nie. Dit sou ook nie prakties wees om die vloeitempo van metode B te verlaag nie. Die oplossing van hierdie probleem is gesetel in die navorsing gedoen in hoofstuk 5. Om die persentasie dialise te verhoog in metode B, kan die vloeitempo's van ontvangerstrome B1 en B2 verlaag word en dié van die skenkerstroom verhoog word. Om die persentasie dialise in metode A te verlaag, kan die vloeitempo van ontvangerstroom A verhoog word en dié van die skenkerstroom verlaag word totdat die verlangde persentasie dialise verkry is. (Kyk die resultate in paragraaf 5.3.) Om die persentasie dialise in metode A op 'n ander wyse nog verder te verlaag, kan die oppervlakte van dialise verklein word. (Uit die resultate van hoofstuk 5 volg dat met 'n verkleining in die oppervlak van die membraan, waaroor daar gedialiseer word, neem die persentasie dialise af.) Op dieselfde wyse kan die persentasie dialise in metode B nog verder verlaag word deur een of beide die dialiseerders se oppervlak van dialise te verklein. Verder kan die

volume wat ingespuut word ook gevarieer word om by die spesifieke behoeftes verlang aan te pas.

Daar is in hierdie eksperimente met gemak tussen 23 tot 30000 keer verdun. Afhangende van die mate van verdunning, wat verlang word, kan die vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstrome aangepas word. In al die eksperimente wat hier gedoen is, was die vloeitempo's van die skenker- en ontvangerstrome dieselfde. Daar moet egter daarop gelet word dat, by veral die laer verdunnings van ongeveer 23 keer, die tyd van elke analise ongeveer 5 minute is. Die doel van dialise as verdunningsmetode onder andere is tog die besparing van tyd aan monstervoorbereiding. Om dus nou nog 'n kleiner verdunning te verkry moet die vloeitempo van die skenker- en ontvangerstrome nog verder verlaag word. Dit sou duidelik die analisetyd nog verder verleng het. Vir die lae vloeitempo's van die ontvangerstroom was die tempo van monsterneming 12 monsters per uur terwyl in die geval van hoë vloeitempo's van die ontvangerstroom die tempo van monsterneming tot 60 monsters per uur was. Daar is dus 'n groot aantal parameters wat verander kan word sodat die optimum werkstoestand verkry kan word om aan die analis se behoefte te kan voldoen. Daar moet dus deur die analis 'n opname gemaak word van die tipe stelsel tot sy beskikking voordat hy 'n verdunningsstelsel ontwerp. Dit sal afhang van watter konsentrasies geanaliseer moet word, die tipe vloeisisteam tot sy beskikking en die tipe detektor wat hy gaan gebruik. Soos in die geval waar die eksperimentele werk in hierdie geval met die spektrofotometer en 'n kleurreaksie gedoen is, word daar aanbeveel dat vir die laer konsentrasies wat bepaal moet word eerder van die AAS metode gebruik gemaak moet word. Dit sal die RSA waardes van veral metode B laat verbeter.

Daar kan dus gesien word dat dialise 'n belangrike rol kan speel by monster voorbereiding in 'n VIA-sisteem. Behalwe vir verdunning, met behulp van die dialiseerder, kan daar ander steurende spesies uit die monster, met dieselfde dialiseerder, verwyder word. Dialise het in hierdie geval dus 'n tweeledige doel.

7.3 Verwysings

1. Israel Y, Barnes RM (1990) *Analyst*. **115**: 1411.
2. Jacintho AO, Zagatto EAG, Reis BF, Passedena LCR, Krug FJ (1981) *Anal. Chim. Acta*. **130**: 361.
3. Van Staden JF (1985) *Fresenius*. **322**: 36.
4. Olsen S, Růžička J, Hansen E H (1982) *Anal. Chim. Acta*. **136**: 101.
5. Růžička J, Hansen EH (1983) *Anal. Chim. Acta*. **145**: 1.
6. Whitman D A, Christian G D (1989) *Talanta* **36**: 205.
7. Hansen EH, Růžička J (1976) *Anal. Chim. Acta*. **87**: 353.
8. Tyson JF, Bysouth SR (1988) *J. Anal. At. Spectrom.* **3**: 211.
9. Garn MB, Gisin M, Gross H, King P, Schmidt W, Thommen C (1988) *Anal. Chim. Acta*. **207**: 225.
10. Steward KK, Rosenveld AG (1982) *Anal Chem*. **54**: 2368.
11. Marshall GD , Van Staden JF, *Anal. Instr.* **20**: 79.

Hoofstuk 8

Beheerbare verdunning

8.1 Inleiding

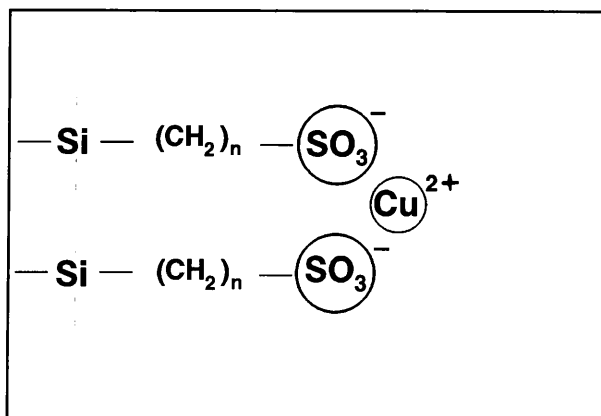
In hoofstuk 7 is navorsing gedoen om aanlyn-monsterverdunning in 'n VIA-sisteem, met behulp van dialise, te bewerkstellig. Hierdie metode, soos in hoofstuk 7 uiteengesit, is ook 'n metode van beheerbare verdunning. Deur slegs 'n verandering in die parameters aan te bring, kan die verlangde verdunning verkry word. Probleme kan egter ontstaan by die analise van monsters wat reeds in 'n verdunde vorm voorkom. Indien dialise in so 'n analise aangewend word, sal die monster nog meer verdun word, ongeag die mate waartoe die parameters ingestel gaan word. Om hierdie rede is daar gesoek na 'n metode om, nadat die monster deur dialise verdun is, dit weer te konsentreer voordat dit na die detektor afgevoer word.

Daar kan van verskeie metodes gebruik gemaak word om te pre-konsentreer in 'n VIA-sisteem. Kubán *et.al.* het van 'n oplosmiddel-ekstraksiemetode gebruik gemaak. [1] 'n Ander metode wat deur Koropchak en Allen [2] gebruik is, is pre-konsentrasie van die analiet met behulp van Donnandialise. Die mees algemeen gebruikte metode vir aanlyn pre-konsentrasie van die analiet is met behulp van 'n ionuuitruilhars. Daar is heelwat literatuur beskikbaar rakende ionuuitruiling as metode vir pre-konsentrasie. Daar word ook van verskeie tipe kationuuitruilharse gebruik gemaak vir hierdie doel. Carbonell

et.al. [3] het 'n vergelykende studie gedoen rakende die tipe harse wat kommersieel beskikbaar is. Daar is egter geen navorsing gedoen rakende die werking van pre-konsentrasie en dialise in dieselfde VIA-sisteem nie. In die navorsing wat deur Fernández *et.al.* [4] gedoen is, is dialisate wel gekonsentreer, maar was die dialiseerder nie deel van die VIA-sisteem nie. 'n Kort agtergrond rakende ionuitruilharse word nou gegee.

Konvensionele ionuitruilreaksies is reeds bekend vir baie eeue. In geskrifte van Aristoteles word daar alreeds na sekere kleie, wat seewater suiwer, verwys. Ioonuitruiling van katione geskied met behulp van 'n kation-uitruilhars of 'n chelaat-ioonuitruilhars. Ioonuitruilers is onoplosbare materiaal wat vaste ladings, genoem die ionogeniese groepe, dra. Teen-ione word omkeerbaar aan hierdie vaste ladings gebind. Afhangende van die affiniteit van die funksionele groep van die vaste lading vir 'n spesifieke teen-ioon, en die relatiewe konsentrasies van kompeterende teen-ione in die oplossing wat deur die hars vloei, kan die ion-uitruilhars omgeskakel word na verskillende teen-ioon vorme. Verskillende stowwe kan optree as sogenaamde ionuitruilers. Van hierdie stowwe sluit kleie, natuurlike en sintetiese zeoliete, sommige glasprodukte, sommige anorganiese oksides en onoplosbare soute en gefunksionaliseerde organiese polimere in. Die mees algemene vorm van hierdie substrate is die organiese polimere soos byvoorbeeld die stireen-divinielbenseen ko-polimeer of uitruilers waar die ionuitruilmateriaal chemies gebind is aan 'n silikasubstraat. [5,6]

Die ionuitruilhars wat in hierdie navorsing gebruik is, was 'n silika geïmobiliseerde sulfonielgroep. Die werking daarvan kan in figuur 8.1 gesien word. [7]



Figuur 8.1 Skematiese voorstelling van die adsorpsie van Cu^{2+} aan die sulfoniel-groepe in die hars.

8.2 Eksperimenteel

8.2.1 Reagense en apparaat

Analitiese graad reagense en gedeïoniseerde water (met behulp van die Modulab clinical modular water system) is deurgaans gebruik.

i. Reagense.

Stamoplossingmetaalioon. Die koper(II)ioon is deurgaans in hierdie eksperimente gebruik. Die stamoplossing se konsentrasie was $1000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Hierdie oplossing is berei deur $7.859 \text{ g CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ (kopersulfaat pentahidraat) presies af te weeg en met gedeïoniseerde water op te maak na 2000 cm^3 .

Elueermiddel. Die elueermiddel het bestaan uit $1.0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ HCl}$, $1.0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ HNO}_3$ en $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaCl}$ oplossing. Hierdie oplossing is berei deur die volgende hoeveelhede van die reagense saam te voeg en op te maak na 1000 cm^3 : 50.0 cm^3 van 'n gekonsentreerde HCl oplossing (spesifieke digtheid = 1.16), 33.1 cm^3 van 'n 70% HNO_3 oplossing en 5.8 g NaCl kristalle.

Bufferoplossing. 'n Ammoniumasetaatbuffer is berei deur 33.55 g ammoniumasetaat af te weeg en in water op te los. 'n 25% Ammoniumhidroksied oplossing is gebruik om die pH in te stel op 9.2. Hierdie oplossing is dan na 2000 cm³ opgemaak. Die pH van die finale oplossing was 8.7.

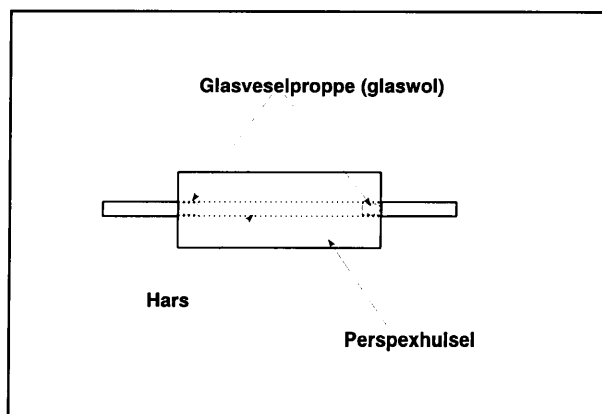
Ioon-uitruilhars. Dionex OnGuard-H monstervooraafbehandelingkolomme se hars is gebruik om die kolom te pak wat by die VIA-sisteem gebruik is. OnGuard-H bestaan uit 'n 16% kruisverbinde, stireen gebaseerde, sulfoonsuurhars. Hierdie hars het 'n baie hoë affiniteit vir multivalente katione en oorgangsmetale.

ii. *Apparaat.*

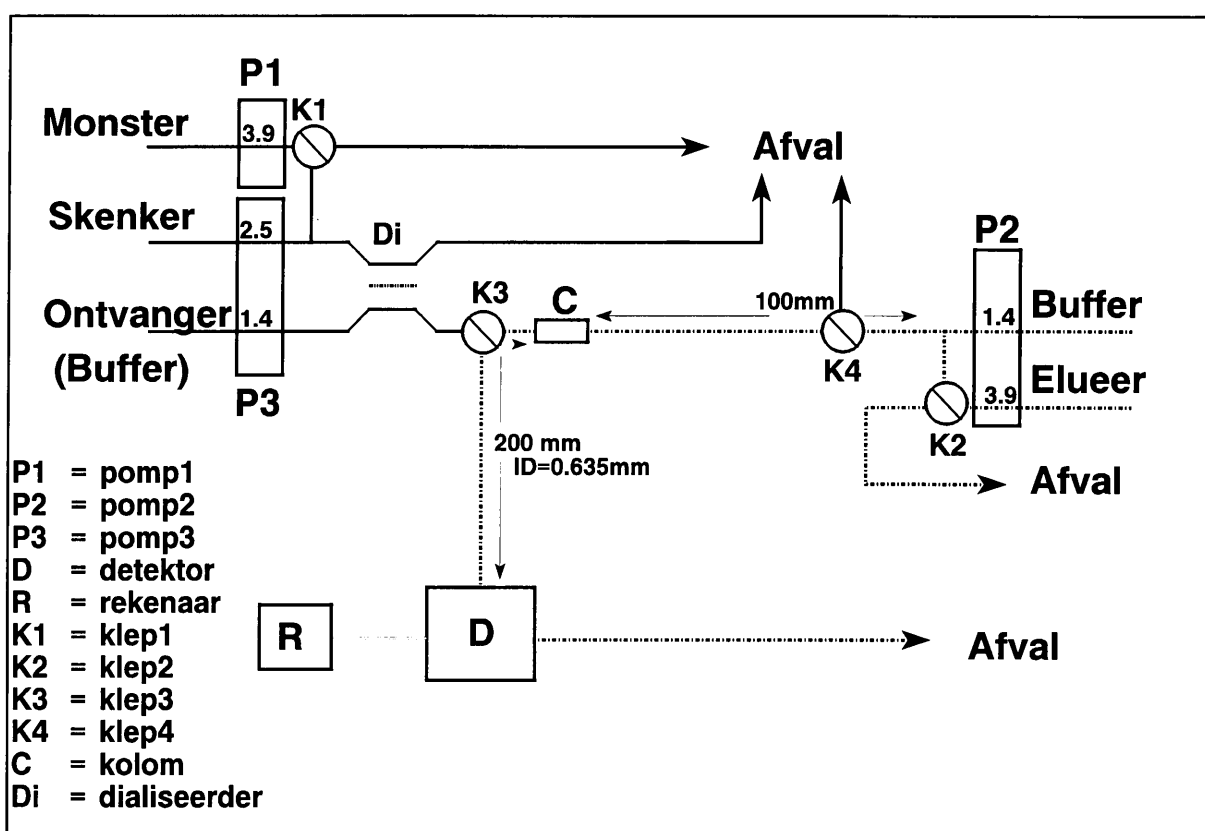
Dialise-eenheid. Die dialise-eenheid wat gebruik is, het uit een enkeldialiseerder bestaan. Die enkeldialiseerder het uit twee Perspexblokke, wat op mekaar pas, bestaan. Elkeen van die blokke bestaan uit 0.5 by 0.5 mm gleuwe wat sodanig ingesny is dat die blokke spieëlbeelde van mekaar is. Sodra hierdie blokke opmekaar geplaas word, pas hierdie gleufies in die onderskeie blokke direk opmekaar. (Daar is dus 'n buis tussen die twee blokke gevorm wat 0.5 mm breed is en 1.0 mm diep is.) 'n Technicon tipe C membraan is tussen die twee blokke geplaas. Hierdie membraan het tot gevolg dat die buis tussen die twee blokke in twee buisies verdeel is van 0.5 by 0.5 mm elk. Die membraan is die enigste fisiese skeiding tussen die twee buisies. Die lengte van die twee buisies was elk 300 mm.

VIA-sisteem. 'n Varian AA-1275 vlamtoomabsorpsiespektrofotometer is as detektor gebruik. 'n Varian 103 multi-element holkatodelamp, met 'n stroom van 10 mA, is gebruik om die monochromatiese ligstraal in die detektor te gee. 'n Golflengte van 324.6 nm en 'n 0.5 mm spleetwydte is in die detektor gebruik. 'n N₂O/asetileenvlam

kan gebruik word indien daar 'n hoë konsentrasie sink ook in die monster teenwoordig is. Die VIA-sisteem is gebaseer op die sisteem in Hoofstuk 4. Technicon pompbuis en 'n Cenco peristaltiese pomp, wat teen 10 revolusies per minuut opereer, is gebruik om die vloeï in die verskillende kanale konstant te hou. Verskillende groottes pompbuis is gebruik om die korrekte vloeitempo in die verskillende kanale te verkry. Tygonbuis is in die vermengingsisteem gebruik. Die lengtes sowel as die interne deursnee van die buis, wat gebruik is, kan in figuur 8.2 gesien word. Die monster is in die skenkerstroom ingespuï met behulp van 'n VICI tienpoort klep. 'n Tweede VICI tienpoort klep is gebruik in die elueermiddel in te spuit. Twee ander kleppe was sodanig ingestel dat hulle slegs tussen verskillende kanale geskakel het. Alle kleppe, pompe en detektor was aan 'n rekenaar gekoppel. Die hele sisteem is vanaf die rekenaar beheer met behulp van die *FlowTek* program. [8] In die VIA-sisteem is daar ook 'n ionuitruilingskolom ingebou. In die kolom is daar meer van die hars ingepak as wat nodig sou wees vir die laevlak koperkonsentrasies wat ge-analiseer gaan word. Die rede hiervoor is dat indien daar monsters ge-analiseer moet word wat ander oorgangsmetale behalwe koper bevat, en die ander oorgangsmetale se affiniteit vir die hars groter is as dié van koper, daar van die koperione verlore mag gaan. Daar moet daarop gelet word dat die hars nie te styf in die kolomhulsel gepak word nie, aangesien dit 'n te hoë terugdruk in die sisteem gaan veroorsaak. In figuur 8.2 is 'n skematiese voorstelling van die kolom.



Figuur 8.2 Skematiese voorstelling van die kolom gebruik in die eksperimente.



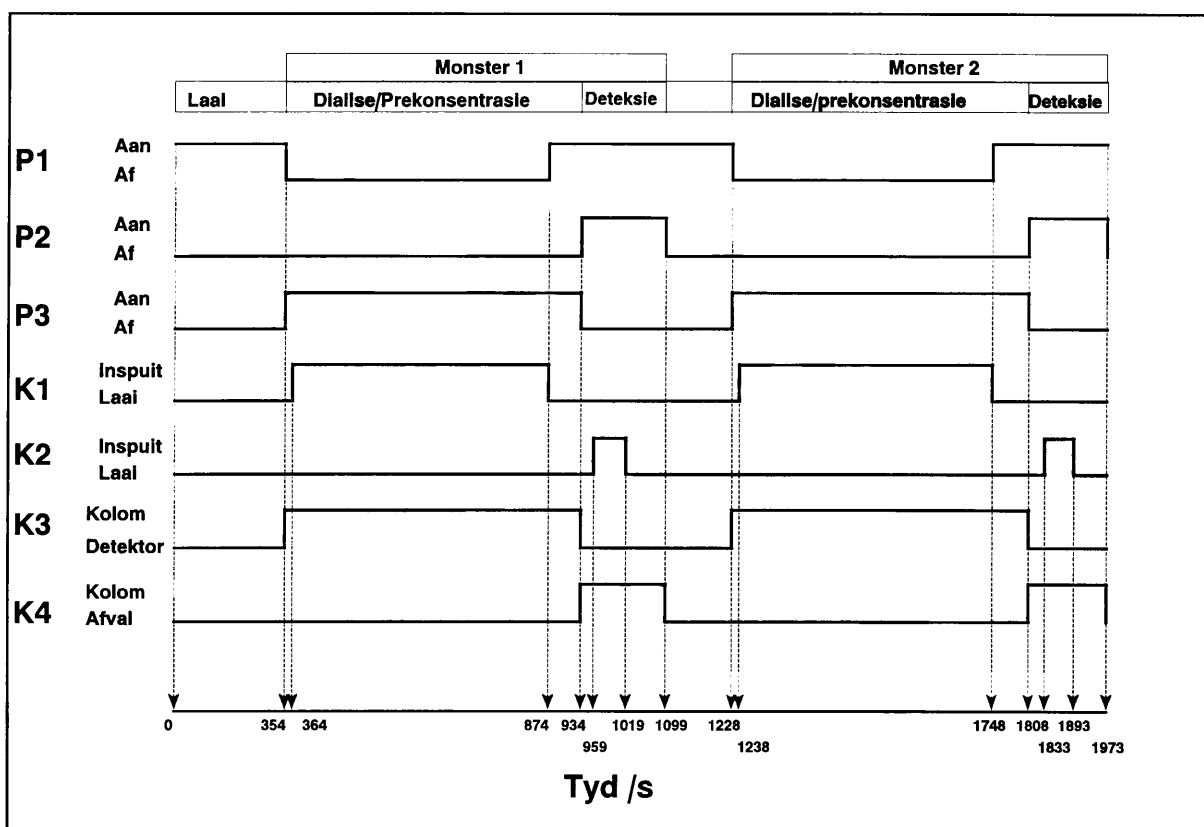
Figuur 8.3 'n Skematiese voorstelling van die VIA-sisteem wat gebruik is.

8.2.2 Metode

In figuur 8.3 is 'n grafiese voorstelling van die VIA-sisteem wat gebruik is. Die stippellyn in figuur 8.3 stel die vloei in die VIA-sisteem voor as pomp P2 in werking is. Daar was geen oomblik waarop pomp P2 en pomp P3 gelyktydig in werking was nie.

Werkings van pompe en kleppe.

Klep K1 (figuur 8.3) was sodanig geskakel dat dit direk in die skenkerstroom ingespuut het. Die volume van die lus wat op klep K1 was, is 22 000 μl . In die laai posisie van klep K1, is die lus van 22 000 μl met monster gevul. Sodra klep K1 na die inspuut posisie (wat tyd gesinchroniseerd met pompe P1 en P3 en met kleppe K3 en K4 was) geskakel was, is 'n gedeelte van die 22 000 μl lus in die skenkerstroom ingespuut. Die werking van klep K2 was tyd gesinchroniseerd met pomp P2. Die volume van die lus op klep K2 was 1000 μl . Klep K2 was gebruik om 1000 μl elueermiddel in die bufferstroom in te spuit (kyk figuur 8.3) Die werking van kleppe K3 en K4 was tyd gesinchroniseerd met die werking van pompe P2 en P3. In Figuur 8.4 is daar 'n grafiese voorstelling van die tyd sinchronisasie van die voorgestelde VIA-sisteem.



Figuur 8.4 'n Grafiese voorstelling van die tyd sinchronisasie van die VIA-sisteem

Die sisteem is toegelaat om vir 5 minute te opereer om die vloedinamika van die sisteem in ewewig te bring. Nou eers is die rekenaar aangeskakel en is daar met die laai mode begin soos wat dit in figuur 8.4 uiteengesit is. Die laai mode is slegs een keer, aan die begin van die eksperiment gedoen waarna die monsters opeenvolgend gedoen is. Die skakeling van die pompe en kleppe op verskillende tye is met behulp van die *FlowTek* [8] program beheer.

(i) *Laai mode.*

Pompe: Pompe P2 en P3 was afgeskakel. Pomp P1 was deur die rekenaar aangeskakel.

Kleppe: Kleppe K1 en K2 was in die laai posisie.

Werking: Pomp P1 was deur die rekenaar aangeskakel en is toegelaat om te opereer vir 354 sekondes sodat die lus op klep K1 volledig met monster gevul kon word. Klep K3 was in die rigting van die detektor, en klep K4 in die rigting van afval geskakel.

(ii) *Dialise/prekonsentrasie mode.*

Na 'n tyd van 354 sekondes is pomp P1 afgeskakel. Pomp P3 is aangeskakel en klep K3 is geskakel in die rigting van die kolom. Die stelsel is toegelaat om vir 10 sekondes so te opereer sodat daar ewewig in die sisteem ingestel kon word. Na hierdie 10 sekondes is klep K1 geskakel om in die skenkerstroom in te spuit. Klep K1 is in die inspuite posisie gelaat vir 510 sekondes sodat daar presies 21 250 μl in die skenkerstroom ingespuite kon word. Die analiet wat in die skenkerstroom ingespuite was, is toegelaat om vir 570 sekondes te dialiseer en te prekonsentreer. Terwyl dialise en prekonsentrasie besig was om plaas te vind, is klep K1, by 'n tyd

van 874 sekondes, weer in die laai posisie geskakel sodat die lus vir die tweede monster gevul kon word.

(iii) *Deteksie mode.*

By 'n tyd van 934 sekondes is pomp P3 afgeskakel. Terselfde tyd is pomp P2 aangeskakel. Klep K3 was in die rigting van die detektor, en klep K4 in die rigting van die kolom geskakel. 'n Tyd van 25 sekondes is toegelaat om die 1000 $\mu\ell$ lus op klep K2 met die elueermiddel te vul. By 'n tyd van 959 sekondes is klep K2 na die inspuit posisie geskakel sodat die elueermiddel as 'n sone in die bufferstroom ingespuut is. Dié elueersone is na die kolom vervoer waar dit die analiet uit die kolom gestroop het. Die analiet is vanaf die kolom na die detektor vervoer. By 'n tyd van 1019 sekondes is klep K2 weer na die laai posisie geskakel.

(iv) *Afsluiting van 'n lopie.*

By 'n tyd van 1099 sekondes, was die analise van monster 1 voltooi. Pomp P2 is afgeskakel en klep K4 is in die rigting van afval geskakel. Op hierdie tydstip was die monsterneming van monster 2 reeds aan die gang.

Die vlam in die AAS is met behulp van die rekenaar, tussen die verskillende analyses, afgesit om sodoende die asetilleengas te bespaar.

8.2.3 Resultate en bespreking

Die grootste gedeelte van die eksperimentele werk het gehandel om die parameters sodanig in te stel dat daar op lae konsentrasievlakke nog 'n redelike herhaalbaarheid vir die analise

verkry kon word. Daar is eerstens na die beste tipe detektor gekyk. Daar moes 'n keuse gemaak word tussen die spektrofotometer met die kleurreaksie en AAS. Daar is op die AAS besluit op grond van die volgende rede:

- Omdat hier van 'n metode van pre-konsentrasie gebruik gemaak word, word daar noodwendig laevlak konsentrasie bepaling verlang. Die AAS is eerder in staat, na aanleiding van die resultate in hoofstuk 4, om hierdie laevlak konsentrasie bepaling te kan uitvoer.

Daar is ook ondersoek ingestel na die beste elueermiddel. Die verskillende konsentrasies van HCl en HNO₃, asook die onderskeie verhoudings tussen die twee sure, is vergelyk. Kyk tabel 8.1.

Tabel 8.1 Bepaling van die optimum elueermiddel.

[HCl] : [HNO ₃]	Piekhoogte	Piekwydte
1 : 0	40	14
0.7 : 0	32	21
1 : 0.5	58	8
1 : 1	62	6
0.5 : 1	54	9
0.1 : 0.1	11	45

Vanuit die tabel kan daar duidelik gesien word dat die elueermiddel waar beide die sure se konsentrasies 1 mol.dm⁻³ is, die beste resultate gelewer het. Daar is besluit om nie hoër konsentrasies suur te gebruik nie, omdat langdurige gebruik van die elueermiddel later die klep kan beskadig aangesien dele van die klep uit 'n metaalalloor bestaan.

Die hoeveelheid NaCl wat in die elueermiddel gevoeg moes word om die korrekte ioonsterkte te verkry, is ook bestudeer. Die invloed van die NaCl was minimaal. Daar is besluit om 'n 0.1 mol.dm^{-3} NaCl oplossing te gebruik aangesien onbekende monsters moontlik opgeloste soute kan bevat.

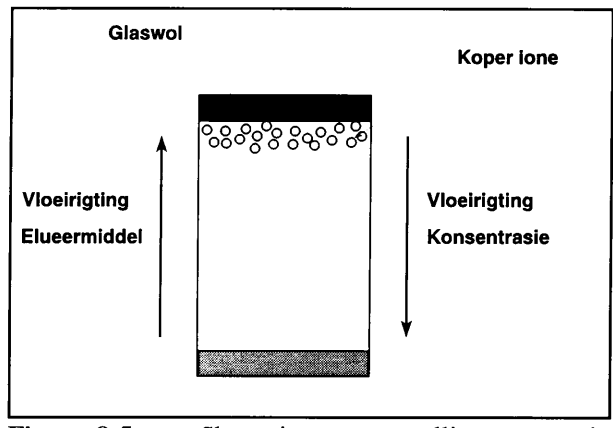
In die werk gedoen deur Kubán et.al.[9], Fang et.al.[10] en Purohit et.al. [11] is daar veral op die vloeitempo van die elueerstream en die dimensies van die kolom self gekonsentreer. Kolomme wat wissel tussen 1 en 3 mm interne deursnee word deur Smith en Chang [9] aanbeveel. Daar is verder gevind dat dunner en langer kolomme hoër pieke gee, met ander woorde die dispersie is minder. Daar moet egter net daarop gelet word dat te dun en lang kolome 'n hoë terugdruk in die sisteem veroorsaak wat weer ander probleme kan veroorsaak. Dieselfde outeurs het gevind dat die vloeitempo van die elueerstream nie 'n baie groot effek op die effektiwiteit van die sisteem het nie. Daar moet in gedagte gehou word dat in hierdie sisteem die parameters nie net die kolom se effektiwiteit beïnvloed nie, maar ook dié van die dialiseerder. Daar is verder ook gekyk na die vloeitempo van die skenkerstream, die monstervolume en die dialisetyd. Hierdie parameters is almal saam gehanteer, aangesien hulle baie nou gekoppel is.

Daar is eers met 'n vaste inspuitvolume gewerk. Die dialisetyd is sodanig gekies dat die hele monstervolume eers ingespuit word voordat eluering plaasvind. Daar is gevind dat die hoeveelheid mol koperione wat gedialiseer het, met 'n stadige skenkerstreamvloeitempo, meer is as dié in die geval van die hoër vloeitempo van die skenkerstream. Dit is wel so dat die tempo van dialise hoër is in die geval waar die vloeitempo van die skenkerstream hoër is, soos wat dit ook in hoofstuk 5 eksperimenteel bepaal is. Die verskil is egter dat die

eksperimentele werk in hoofstuk 5 met 'n skenkerstroom in 'n geslote lus gedoen is, en die eksperimente was tydsgebonde. In hierdie geval is dit egter anders, aangesien die volume wat ingespuut is, slegs een keer deur die dialiseerder beweeg en tyd nie in berekening gebring is nie. Daar is egter gevind, dat alhoewel die pieke wat verkry is, hoër was in die geval van die stadige skenkervloeiempo, die herhaalbaarheid swakker was.

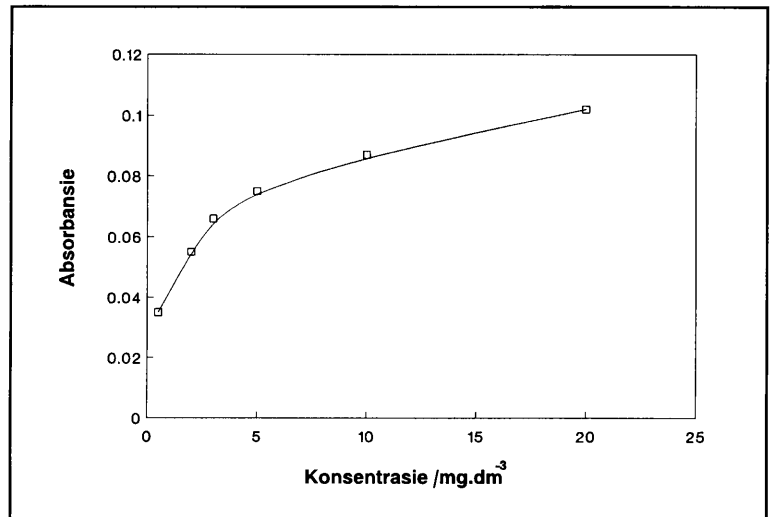
Daar is toe 'n tydsfaktor ingebring. Daar is gevind dat hoe langer die dialisetyd is, hoe swakker is die herhaalbaarheid. Daar is toe besluit om volume as parameter te gebruik met die monsterlus net groot genoeg sodat as dit teen 'n redelike vloeiempo ingespuut word, die monsterlus nie leeg sal wees in 'n redelik vasgestelde tyd nie. Daar is op grond hiervan besluit op 'n $2.50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ vloeiempo vir die skenkerstroom, 'n inspuittydperk van 510 sekondes en 'n volume van $22000 \mu\ell$ vir die monsterlus. Die pompbuis wat in die pomp gebruik is vir die skenkerstroom, was veronderstel om 'n vloeiempo van $3.50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ te lewer, maar as gevolg van die terugdruk van die kolom op die dialiseerder, was die vloeiempo net $2.50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Die vloeiempo wat dus gebruik is, was relatief hoog en die dialisetyd is relatief laag: albei faktore wat bydra tot hoër herhaalbaarheid van die eksperimente. Daar is nie aan die vloeiempo van die ontvangerstroom verander nie as gevolg van die terugdruk van die kolom.

Die volgende parameter waarna daar gekyk is, is die vloeirigting van die twee onderskeie bufferstrome deur die kolom. Daar is gevind dat die herhaalbaarheid van die eksperimente drasties toeneem indien die konsentrasiestap en die elueerstap se vloeirigtings teenoorgesteld van mekaar is. Die rede hiervoor is die volgende: (Kyk figuur 8.5)



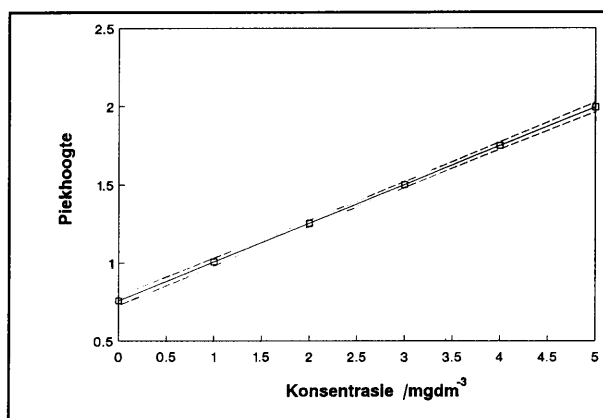
Figuur 8.5 Skematiese voorstelling van 'n dwarsnit deur die kolom wat die vloeirigtings deur die kolom aantoon.

Koper(II)ione, wat van die dialisaat afkomstig is, word op die punt van die kolom ge-adsorbeer waar die dialisaat die kolom binne kom. Indien daar nou in dieselfde rigting geelueer gaan word, sal die koperione baie meer versprei word en sal daar 'n groter mate van dispersie voorkom. Sodra die eluering plaasvind in die rigting aangetoon in figuur 8.5, is die afstand wat die ione deur die hars self moet elueer, minimaal. Om hierdie rede sal die "prop" van koperione baie meer gekonsentreerd wees as dit by die detektor aankom.



Figuur 8.6 Kalibrasie kromme tussen 0.5 en 20 mg.dm⁻³.

Om die kalibrasiekromme op te stel, is daar van koperoplossings tussen 0.5 en 20 mg.dm^{-3} gebruik gemaak. Die resultaat hiervan word in figuur 8.6 grafies voorgestel. Daar kan duidelik, uit hierdie grafiek gesien word, dat daar 'n lineêre verband in die konsentrasiegebied $5 - 20 \text{ mg.dm}^{-3}$ en $0.5 - 3 \text{ mg.dm}^{-3}$ bestaan. Konsentrasies hoër as 20 mg.dm^{-3} is nie ondersoek nie aangesien daar na laevlak konsentrasiebepalings gekyk is. Daar is verdere eksperimente met laevlak konsentrasies gedoen en is daar gevind dat daar 'n reglynige verband in die konsentrasiegebied van 0.5 en 5 mg.dm^{-3} bestaan. Die resultate hiervan word in figuur 8.7 grafies aangetoon.



Figuur 8.7 Kalibrasie kromme vir die bepaling van koper na dialise tussen 0.5 en 4 mg.dm^{-3} .

Die stippellyne in hierdie kromme toon die 95% vertrouensgrens aan. Die blokkies is die eksperimentele data en die soliede lyn is die regressielyn wat deur die eksperimentele punte gepas is. Hierdie regressielyn is met behulp van chemometriese metodes, soos deur McCormick en Roach beskryf [12], bepaal. Die lineêre verwantskap tussen die absorbansie en die koper(II)ioon is die volgende:

$$y = 0.24791x + 0.75935; \quad r = 0.9989$$

Toepassing: Deur van die metode, soos deur McCormick en Roach beskryf [12], is daar 'n rekenaar program opgestel om die konsentrasie van 'n onbekende monster te bepaal. 'n Hondekosaanvullingsmengsel was as onbekende gebruik. Hierdie hondekosaanvullingsmengsel was in 'n poeiervorm. Vier verskillende massas van tussen 2.000 en 3.500 g is presies afgeweeg. Hierna was daar 'n pasta met water van elk van die verskillende monsters gemaak wat dan vir 30 minute geskud was. Hierdie pasta is dan oornag gelaat voordat dit die volgende dag na 1000 cm³ opgemaak is. Hierdie monsters is direk in die monsterlus opgesuig en is daarna direk in die skenkerstroom ingespuut. Daar is geen ander vooraf voorbereiding met hierdie monsters gedoen nie. Hierdie monsters is net soos die monsters, wat vir die kalibrasiekromme gebruik is, gehanteer. Die resultate van hierdie toepassings word in tabel 8.2 getoon.

Tabel 8.2 Die resultate en die herhaalbaarheid van die voorgestelde VIA-sisteem met die bepaling van Cu²⁺ in 'n hondekosaanvullingsmengsel.

Monster nr.	Standaard AAS metode (%m/m)	VIA metode (%m/m)	R.S.D. (%) ^a
1	0.047	0.045	5.74
2	0.045	0.043	5.41
3	0.046	0.046	5.22
4	0.046	0.044	5.01

^an = 15

Die gemiddelde R.S.A waarde is 5.28. Hierdie RSA waarde lyk op die oog af nie so goed nie, maar as die volgende aspekte in aanmerking geneem is dit 'n heel aanvaarbare waarde:

- Alhoewel die vlam in die AAS, deur die rekenaar gehanteer is, kon dit tog 'n negatiewe invloed op die RSA waarde gehad het.

- Twee monstervoorbereidingstappe kom in hierdie metode voor, naamlik dialise en pre-konsentrasie. Elkeen van hierdie stappe sal noodwendig 'n verhoging in die RSA waarde tot gevolg hê.
- Die konsentrasie van die analiet in die monster is na dialise baie laag. Om hierdie rede moet daar van lang pre-konsentrasie tye gebruik gemaak word. Hierdie langer pre-konsentrasie tye gee aanleiding tot verlaagde herhaalbaarheid.

Deur die nodige berekeninge is die waarde van die koperinhoud van die droë hondekos as 0.045 % bereken. Hierdie persentasie verteenwoordig slegs die oplosbare koper in die hondekos. Hierdie waarde stem baie goed ooreen met die waarde wat deur die vervaardigers van die hondekos gegee is as 0.05 %. Hierdie antwoord is deur 'n normale AAS metode getoets. Die monster moes egter eers gesentrifugeer en gefiltreer word, voordat dit vir analise na die AAS geneem is. Die waarde verkry (kyk tabel 8.2) stem goed ooreen met die waarde deur middel van die dialise en die pre-konsentrasie metode verkry.

Die detekselimiet van hierdie sisteem is bepaal met behulp van vergelyking 3.5. Die standaardafwyking van die blankomonster is 0.00101. Die detekselimiet is as $0.295 \text{ mol.dm}^{-3}$ bereken.

Uit al bogenoemde gegewens is die nut van dialise weereens gedemonstreer. Deur die regte instelling, van al die parameters, kan hierdie metode aangewend word vir byna enige analise wat gedoen moet word. Deur die membraan te verwissel kan daar teen ander steurende faktore gediskrimineer word. Deur die vloeitempo's, tyd van dialise en die volume van die

monsterlus te verander, kan hierdie metode byna vir enige konsentrasie van die analiet aangewend word. Daar is ook gevind in die bepaling van die hondekosmonsters dat deur van dialise gebruik te maak, die tempo van analise 4,4 per uur is. Voordat die hondekosmengsel op die konvensionele wyse in die AAS ge-analiseer kon word, moes die monster eers met behulp van handmetodes voorberei word. Eers is die monster gesentrifugeer sodat al die swaarder deeltjies kon uitsak. Hierna is die monster gefiltreer om die deeltjies wat nie wou uitsak nie, te elimineer. Dit was 'n baie tydrowende prosedure aangesien hierdie monster nie net gesentrifugeer moes word nie, maar ook gefiltreer moes word. (Beide die filtrasie en die sentrifugasie is gedoen omdat daar te veel onopgeloste materiaal was om dit net te kon filtreer.) Indien daar 'n groot aantal monsters met behulp van die handmetodes voorberei moet word, is die kans goed dat daar kontaminasie van monster tot monster kan voorkom. Indien daar egter van die aanlyn dialise/pre-konsentrasie metode gebruik gemaak word, is die kans dat kontaminasie tussen monsters gaan voorkom, uiters gering.

8.3 Verwysings

1. Kubán V, Komárek J, Cajkova D (1989) **Collect. Czech. Chem. Commun. 54:** 2683.
2. Koropchak JA, Allen L (1989) **Anal. Chem. 61:** 1414.
3. Carbonell V, Salvador A, De la Guardia (1992) **Fresenius J Anal Chem. 342:** 529.
4. Fernández P, Pérez Conde C, Gutiérrez A, Cámara C (1991) **Talanta 38:** 1387.
5. Smith FC, Chang RC (1983) **The Practice of Ion Chromatography.** John Wiley & Sons.
6. Gjerde DT, Fritz JS (1987) **Ion Chromatography 2nd Edition.** Dr Alfred Hüthig Verlag.
7. Van Horne KC (1990) **Sorbent extraction technology.** Analitichem International Varian.
8. Marshall GD Van Staden JF (1992) **Anal. Instr. 20:** 79.
9. Kubán V, Komárek J, Zdráhal Z (1989) **Collect Czech. Chem. Commun. 54:** 1785.
10. Fang Z, Welz B (1989) **J.Anal. At. Spec. 4:** 543.
11. Purohit R, Devi S (1991) **Talanta 38:** 753.
12. McCormick D, Roach A (1987) **Measurement, Statistics and Computation: Analytical Chemistry by open learning.** John Wiley & Sons, Chichester.

Hoofstuk 9

Die doel van hierdie projek was om verskillende aanlyn metodes van dialise in vloeisisteme te ondersoek. Nou word die vraag gevra: "Is hierdie doel bereik?"

Dialise, gekoppel in 'n vloeisisteam het in die verlede nie veel aandag geniet nie. Daar is egter gevind dat, deur middel van dialise 'n vloeisisteam opgestel kan word wat geen of baie min monstervoorbereiding verg. Dialise kan aanlyn in 'n vloeisisteam aangewend word om monsterverdunning uit te voer. Daar is in die navorsing, in hierdie projek, gesien dat die mate waartoe monsterverdunning in die vloeisisteam uitgevoer kan word, baie maklik beheer kan word. Monsterverdunning is deeglik ondersoek. As deel van die monsterverdunnig, moes die faktore wat dialise in 'n vloeisisteam beïnvloed, ook ondersoek word. Met al hierdie kennis tot 'n analise beskikking kan verdunning oor 'n wye konsentrasie interval, in 'n vloeisisteam, verkry word.

'n Ander voordeel van dialise wat veral in hoofstuk 8 gesien kan word, is die diskriminasie van 'n semi-deurlatende membraan teen steurende stowwe wat in die monsteroplossing kan voorkom. Dialise kan dus tweeledig in 'n vloeisisteam aangewend word. Indien die mate van verdunning te hoog is, ongeag die mate waartoe die parameters in die sisteem ingestel is, kan daar nou 'n metode van pre-konsentrasie in samewerking met die dialisesisteam gebruik word.

Nou kan die vraag beantwoord word. Ja, daar is in die doel geslaag. Daar kan dus met al hierdie metodes tot 'n analise beskikking, byna enige monster, met watter steurende stowwe

en van watter konsentrasie ook al, direk, sonder enige monstervoorbereiding, ge-analiseer word. Hierdie metodes kan ook maklik ge-outomatiseer word. Die sisteem kan baie goedkoop opgebou word. Die sisteem, as dit eers ge-optimiseer is, verg geen spesiale kundigheid om te bedryf nie. Hierdie metodes wat ondersoek is kan dus met groot welslae in die praktyk aangewend word.