



N. Bolf*

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
Sveučilišta u Zagrebu
Zavod za mjerenja i automatsko vođenje procesa
Savska cesta 16/5a, 10 000 Zagreb

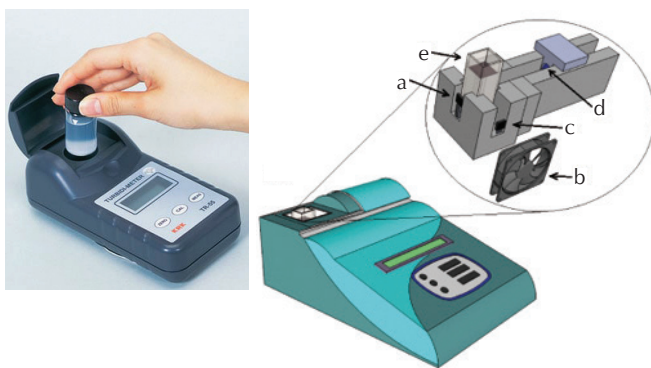
Mjerenje mutnoće – turbidimetrija i nefelometrija

Mutnoća (engl. *turbidity*) mjeri je zamućenosti kapljevina, osnovni je i jednostavan pokazatelj kvalitete vode. Suvremene metode upregnute su u pokušaju da se ostvari kvantitativno mjerenje kako estetskih tako i patogenih karakteristika pitke vode, ali i produkata dobivenih u laboratorijskim istraživanjima i u pogonima procesne industrije.

Mjerenje mutnoće provodi se slanjem snopa upadne svjetlosti definiranih karakteristika za detekciju čestica u uzorku vode ili druge kapljevine. Tvari prisutne u vodi uzrokuju raspršenje snopa i to se raspršeno svjetlo detektira i kvantificira s obzirom na umjeren sljedivi standard. Što je količina čestica sadržana u uzorku veća, to je veće raspršenje upadne zrake svjetlosti, a mutnoća je veća.

Mutnoća je izvorno služila kao kvalitativna estetska mjera za pitku vodu. Ona, zapravo, nije izravna mjera broja čestica, već nam daje informaciju koliko te čestice utječu na svjetlost koja prolazi ili kako se ta svjetlost odbija od čestica u vodi.

Naprave za mjerenje mutnoće nazivaju se turbidimetri, slika 1. Oni zapravo mjere relativnu prozirnost tekućine mjerenjem količine svjetlosti raspršene na česticama suspendiranim u uzorku. Turbidimetar čine izvor svjetlosti, fokusne leće za usmjeravanje snopa svjetlosti kroz uzorak, fotoelektrični detektor postavljen pod kutom od 90° u odnosu na upadni snop za mjerenje količine raspršene svjetlosti.



Slika 1 – Turbidimetar s uvećanim prikazom optičke sekcije: a) fotodetektor, b) hladilo, c) osjetilo temperature, d) izvor LED svjetlosti i e) kiveteta (https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000400027)

Čestice raspršuju upadnu svjetlost u svim smjerovima ovisno o veličini, obliku i sastavu, valnoj duljini zrake svjetlosti i indeksu loma uzorka. Indeks loma čestice treba se što više razlikovati od kapljevine da rasipanje bude intenzivnije.

Turbidimetrija

(lat. *turbidus*: nemiran, uzburkan + -metrija), optička analitička metoda za mjerenje mutnoće suspenzija, tj. za određivanje koncentracije tvari koje su suspendirane u nekoj kapljevini u obliku sitnih čestica. Provodi se fotoelektričnim mjerenjem intenziteta svjetlosti propuštene kroz suspenziju. Osim o koncentraciji čestica u suspenziji, intenzitet propuštene svjetlosti ovisi o veličini i obliku čestica te o omjeru indeksa loma čestica i okolnoga medija.

Nefelometrija

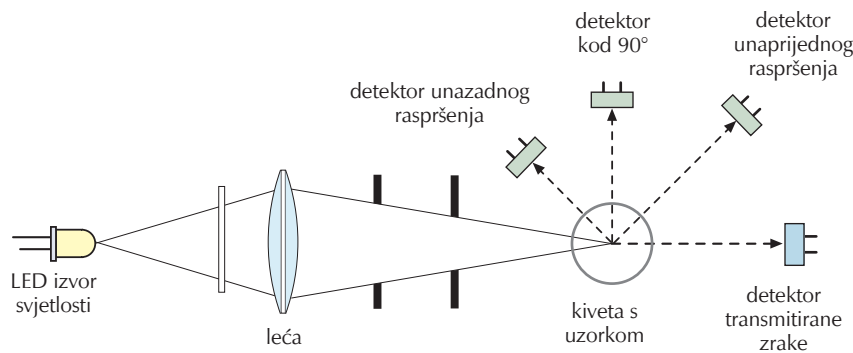
(grč. *νεφέλη*: oblak + -metrija) (tindalometrija), optička analitička tehnika za određivanje koncentracije tvari koje su suspendirane u nekoj kapljevini ili plinu u obliku sitnih čestica. Temelji se na Tyndallovu efektu a izvodi se fotoelektričnim mjerenjem intenziteta svjetlosti raspršene na česticama. S pomoću nefelometrije određuju se relativne molekularne mase polimera, a automatski instrumenti toga tipa rabe se npr. za kontrolu ispravnosti vode u vodnom gospodarstvu te pića u prehrambenoj industriji, za mjerenje koncentracije zagađivača zraka u cestovnim tunelima, u protupožarnim uređajima za signaliziranje o pojavi dima i dr.

Tyndallov efekt

[ti'ndəl~], raspršenje svjetlosti na vrlo sitnim lebdećim česticama disperznih sustava kakvi su npr. koloidi. Uzak snop svjetlosti koji u nekom određenom smjeru ulazi u disperzijski sustav vidjet će se zbog raspršenja svjetlosti ako se sustav promatra i bočno, sa strane, kao što se npr. vide Sunčeve zrake u magli ili noću snop svjetlosti iz reflektora na oblacima. Svjetlost kraćih valnih duljina jače se raspršuje, pa je raspršena svjetlost često, s obzirom na upadnu svjetlost, plavičasta (npr. ispušni plinovi motornih vozila, cigaretni dim). To je i uzrok nebeskog plavetnila i crvene boje Sunca na izlasku ili zalasku. Tyndallov efekt primjenjuje se u optičkim dojavljivačima dima (požara), u okulističkoj dijagnostici, u određivanju veličine koloidnih čestica i drugdje. Efekt je zapazio John Tyndall 1868., a teorijski ga je objasnio John William Strutt, Lord Rayleigh 1871.

Standardni turbidimetar (engl. *non-ratio turbidimeter*) i turbidimetar omjera (engl. *ratio turbidimeter*) sličnog su dizajna. Prikazani su na slici 2. Standardni ima samo jedan detektor smješten na 90° u odnosu prema upadnoj svjetlosti, dok turbidimetar omjera ima dva dodatna detektora na suprotnim stranama.

* Prof. dr. sc. Nenad Bolf
e-pošta: bolf@fkit.hr



Slika 2 – Turbidimetar omjera mjeri propuštenu svjetlost na 180° i reflektiranu svjetlost na 90°, 70° (unaprijedno raspršenje) i na 138° (unatrazno raspršenje) pri čemu kombinira više očitavanja kako bi se eliminirale smetnje i utjecaj boje uzorka.

Mjerenje turbidimetrom temelji se na usporedbi intenziteta svjetlosti raspršene uzorkom pod određenim uvjetima u usporedbi s intenzitetom svjetlosti raspršene referentnim standardom pod istim uvjetima.

Postoje razne izvedbe, kao što su Helligeov turbidimetar, fotoelektrični nefelometar, Parrov turbidimetar, Jacksonove svijeće i mnoge druge.

Turbidimetri se primjenjuju u procesnoj industriji (npr. farmaceutska, papirna, prehrambena) i komunalnim mjerenjima. Tipična primjena je za praćenje kvalitete vode. U prehrambenoj industriji primjenjuju se za detektiranje tragova onečišćenja u kapljevina, također mjere prozornost slabih kiselina u industriji celuloze i papira, prate mikrobiološke kulture u proizvodnji antibiotika.

Primjena za praćenje kvalitete vode

Svaka čestica unutar uzorka koja se nađe na putu upadne zrake promijenit će izmjerenu ukupnu mutnoću uzorka. Čestice se iz uzorka ili toka uklanjaju filtriranjem. Ako filtracijski sustav radi ispravno i nadzire se turbidimetrijski, mutnoća efluenta bit će niska, a mjerenje će biti stabilno. Neki turbidimetri manje su učinkoviti kod mjerenja super čiste vode jer su u njoj veličina i broj

čestica veoma mali. Osjetila koja nemaju dovoljnu osjetljivost na tako niskim razinama neće moći razlikovati malu razinu signala od osnovnog mjernog šuma, tzv. bazne linije (engl. *baseline noise*) instrumenta.

Šum bazne linije dolazi iz nekoliko izvora: inherentni šum instrumenta (elektronički šum), "lutajuća" svjetlost, šum uzorka, kao i onaj vezan uz sam izvor svjetlosti. Problem je što su spomenuti šumovi aditivni i osnovni su uzrok pojave "lažne" detekcije.

Laserske tehnike mjerenja

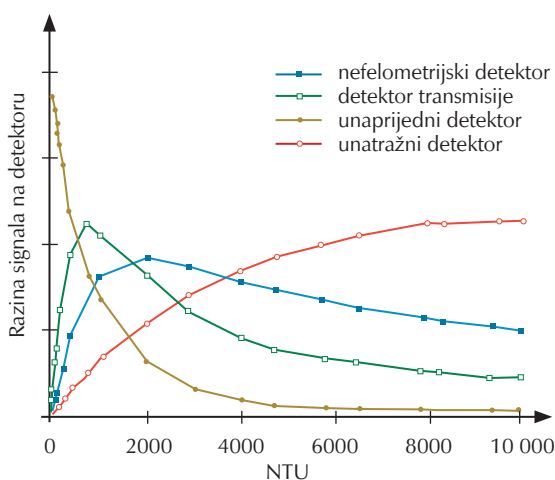
U proteklom desetljeću pojavile su se nove laserske tehnike koje su se pokazale dobre pri praćenju rada filterskih sustava. Laserski turbidimetri prikladni su za analizu niske razine mutnoće u uzorcima veoma čiste vode jer imaju bolji optički sustav s većom osjetljivošću i stabilnošću.

Laserski turbidimetar rabi visokokolimirani (paralelne zrake) monokromatski izvor svjetlosti koji fokusira svjetlosnu energiju u vrlo mali volumen unutar kivete s uzorkom. Tako dobivamo upadnu zraku velike gustoće zračenja koja se dobro raspršuje na česticama unutar uzorka. Detektor je također veće osjetljivosti i daje veći odziv raspršene svjetlosti. Poželjno je da se vrh spektra odziva detektora u potpunosti preklapa sa spektrom koji emitira upadajući izvor svjetlosti kako bi se ostvarila najveća moguća optička osjetljivost. Kombinacijom osjetljivosti detektora, kolimiranog izvora svjetlosti i velike snage zračenja upadne zrake ostvaruje se vrlo visok omjer signala i šuma. Omjer je bitan jer povećava osjetljivost na veoma male promjene mutnoće koje se moraju razlučiti od bazne linije. Drugim riječima, visok omjer signala i šuma znak je da se radi o turbidimetru velike osjetljivosti.

Laserski turbidimetri i drugi instrumenti koji imaju visok omjer signala i šuma rezultat će izuzetno stabilnim baznim linijama u usporedbi s tradicionalnim turbidimetrima. Stabilna, pak, bazna linija omogućuje detekciju vrlo malih promjena mutnoće u uzorku koje konvencionalni turbidimetri ne bi mogli razlikovati.

Važno je razumjeti da se mjerenje mutnoće zasniva na metodi, stoga se kvantitativno mogu uspoređivati samo ona mjerenja provedena istom metodologijom. Razlika u apsolutnim vrijednostima mutnoće može ukazivati na odstupanje (engl. *offset*) između dvije metode, što može također ovisiti o načinu umjeravanja. To treba uvijek uzeti u obzir pri usporedbi mjerenja mutnoće.

U turbidimetriji treba istaknuti i važnost umjeravanja i ovjeravanja. Kvaliteta umjeravanja ovisi o kvaliteti norme, što je bitno kod uspostave i provjere kvalitete mjerenja mutnoće.



Slika 3 – Nefelometrijska mjerenja linearna su pri niskoj mutnoći, a zatim postaju nelinearna prema višim. Turbidimetrom omjera istodobno se mjeri pod četirima različitim kutovima, čime se mjerenje kompenzira za veću točnost u širokom rasponu mutnoća.

Standardi u turbidimetriji

Normizacija u turbidimetrijskim mjerenjima zahtjevna je dijelom zbog postojanja više vrsta standarda i više organizacija kao što su ISO, Standard Methods i US EPA, a dijelom zbog terminologije ili definicije koju primjenjuje. U 19. izdanju *Standardnih metoda* za ispitivanje vode i otpadnih voda, razlikuju se primarni naspram sekundarnih standarda. *Standardne metode* definiraju primarni standard kao onaj koji korisnik priprema od sljedivih primarnih materijala, primjenjujući precizne metode u kontroliranoj okolini. Formazin (vidi okvir!) jedini je široko prihvaćen primarni standard, a svi ostali standardi sežu nazad do formazina. Algoritmi i specifikacije turbidimetra trebali bi biti vezani uz ovaj primarni standard.

Standardne metode definiraju sekundarne standarde kao one koje je proizvođač (ili neovisna ispitna organizacija) certificirao kako bi rezultati umjeravanja instrumenta bili (u određenim granicama) ekvivalentni rezultatima dobivenim kada je instrument umjeren sa (primarnim) standardima formazina koje je pripremio korisnik. Za umjeravanje dostupni su različiti standardi, uključivši komercijalne suspenzije od 4000 NTU formazina, stabilizirane suspenzije formazina (*StablCal™* stabilizirani standardi formazina) i komercijalne suspenzije mikrosfera kopolimera stiren-divinilbenzena.

Za provjeru umjeravanja danas se rabi i oprema koju isporučuju proizvođači instrumenata (npr. zapečaćene kivete napunjene suspenzijom lateksa ili s česticama metalnog oksida u polimernom gelu), ali se ne upotrebljavaju za provedbu umjeravanja instrumenata. Ako postoji neslaganje u točnosti standarda ili instrumenata, treba se uzeti primarni standard (tj. formazin koji priprema korisnik).

Primarni standardi primjenjuju se, također, za mjerenje i određivanje svih ostalih standarda. Sekundarni standardi primjenjuju se za provjeru umjeravanja turbidimetara. Međutim, sekundarni standardi se ne bi smjeli primjenjivati za umjeravanje instrumenata. Primjeri tih standarda su gelovi metalnih oksida, lateks i svi bezvodni standardi koji su pripremljeni za svakodnevno praćenje umjeravanja. S druge strane, formazin, *StablCal* standardi i *Amco AEP-1* pripremljeni su i služe za umjeravanje instrumenata.

StablCal standardni

Za umjeravanje ili provjeru rada turbidimetra razvijen je novi standard mutnoće. *StablCal stabilizirani standardi* na bazi formazina sadrže isti polimer za raspršivanje svjetlosti kao i tradicionalni formazinski standardi primarne zamućenosti. Primjenom drugačije matrice, polimer u *StablCal* standardima neće s vremenom degradirati, kao što je slučaj sa standardima formazina niske mutnoće. Veća stabilnost omogućila je proizvodnju i pakiranje standarda koji su odmah spremni za upotrebu. Tako se štedi vrijeme i minimalizira izravna izloženost standardu.

Mjerenje vrlo visoke mutnoće

Mjerenja vrlo visoke mutnoće primjenjuju se kad više nije moguće mjeriti standardnom nefelometrijskom metodom. U uzorku s mjernom duljinom od 1 inč nefelometrijski raspršeni signali rasipanja počinju slabiti kad mutnoća pređe 2 000 NTU. U toj točki povećanje zamućenja rezultat će smanjenjem nefelometrijskog signala.

Uz to, glavni razlog interferencije je boja uzorka. Zbog utjecaja boje primjena nefelometrijske zamućenosti ograničena je, posebno u proizvodnji pića, prehrambenih proizvoda, staničnih kultura i ulja dispergirano u vodi.

Formazin

Formazin je heterociklički polimer dobiven reakcijom heksametilentetramina s hidrazin sulfatom.



Formazin je izuzetno slabo topljiv u vodi i kada se izravno sintetizira u vodenoj otopini miješanjem dvaju visoko topljivih prekursora, stvara koloidne čestice male veličine. Ti organski koloidi uzrokuju rasipanje svjetlosti suspenzija formazina u svim smjerovima. Optička svojstva koloidnih suspenzija ovise o veličini i raspodjeli suspendiranih čestica. Budući da je formazin stabilan sintetički materijal ujednačene veličine čestica, obično se rabi kao standard za umjeravanje turbidimetara i za kontrolu ponovljivosti mjerenja. Primjenu formazina prvi su predložili Kingsbury i sur. (1926.) za brzu normizaciju mjerenja mutnoće za određivanje albumina u mokraći.

Jedinice

Jedinica za mutnoću označava se kao FTU (engl. *formazine turbidity unit*). Suspenzija od 1,25 mg l⁻¹ hidrazin sulfata i 12,5 mg l⁻¹ heksametilentetramina u vodi ima zamućenost od 1 FTU.

U SAD-u se, a i drugdje, kao standardna jedinica primjenjuje nefelometrijska jedinica zamućenja – NTU (engl. *nephelometric turbidity unit*), dok se međunarodna standardna jedinica naziva nefelometrijska jedinica formazina – FNU (engl. *formazin nephelometric unit*). Najviše se primjenjuje FTU.

Za određivanje mutnoće takvih uzoraka mogu se primijeniti tri metode: transmisije, unaprijednog raspršenja i unatražnog raspršenja. Intenziteti signala transmisije i unaprijednog raspršenja obrnuto su proporcionalni mutnoći i imaju dobar odziv do 4 000 NTU. Iznad 4 000 NTU (uz standardni mjerni put od 1 inč), transmitirani i unaprijedni signali toliko su niske razine da počinje dominirati šum instrumenata. S druge strane, unatražni signal povećavat će se proporcionalno s rastom mutnoće. Mjerenje unatražnog raspršivanja učinkovita su posebno u rasponu od 1 000 do 10 000 NTU (i više). Ispod 1 000 NTU, rasipanje je vrlo malo i šum počinje ometati mjerenje. Primjenom odgovarajuće kombinacije detektora danas se može mjeriti u rasponu od izuzetno niske do vrlo visoke razine.

Taj način mjerenja poznat je kao turbidimetrija omjera (engl. *ratio turbidimetry*). Optički omjer ključan je za stabilnost, linearnost, osjetljivost, prigušenje lutajućeg svjetla i eliminiranje utjecaja boje. U tom instrumentu detektor transmitirane svjetlosti mjeri svjetlost koja prolazi kroz uzorak. ND (engl. *neutral density*) filter prigušuje svjetlost koja pada na taj detektor, a nagutost od 45° prema upadnoj svjetlosti osigurava da refleksije s površine filtra i detektora ne ulaze u ćeliju. Detektor unaprijednog raspršenja (engl. *forward scatter detector*) mjeri svjetlost raspršenu na 30° od smjera prolaza. Detektor pod nagibom od 90° mjeri raspršenje u smjeru okomitom na upadnu zraku. I četvrti detektor unatražnog raspršenja (engl. *back-scatter detector*) mjeri svjetlost raspršenu

na 138° smjera upadne svjetlosti. On "vidi" svjetlost raspršenu u veoma mutnim uzorcima kad drugi detektori više ne daju linearni signal. Signali tih detektora matematički se obrađuju kako bi se izračunala mutnoća uzorka.

Mjerenje ultravisoke mutnoće primjenjuje se za praćenje sadržaja masti u mlijeku, smola u bojama (npr. titanov dioksid), otopine u preradi celuloze i proizvodnji papira, papira i suspenzija u radu mlinova.

Mutnoća i suspendirane čvrste čestice

Mjerenje ultravisoke mutnoće obično se provodi izravno za vođenje procesa ili kao zamjena dugotrajnoj gravimetrijskoj analizi ukupnih suspendiranih krutina (engl. *total suspended solids* – TSS). Pri tome treba uspostaviti korelaciju između zamućenosti i TSS-a uzorka. Ako takva korelacija postoji, tada se turbidimetar može primijeniti za praćenje trenutačnih promjena TSS-a u uzorku. Najprije treba utvrditi odnos mutnoće i promjena uvjeta u procesnom toku. U tu svrhu pripremaju se razrijeđenja uzoraka pa se zatim mjeri mutnoća i TSS svakog razrijeđenja. Zatim se prikaže grafička ovisnost zamućenja ($os\ y$) u odnosu na odgovarajuće razrjeđenje ($os\ x$). Nagib linije određene metodom najmanjih kvadrata definirat će taj odnos. Vrijeme odziva na promjenu TSS-a u procesu takvim turbidimetrijskim mjerenjima može se svesti sa sata praktički na sekunde.

Kako odabrati prikladan način mjerenja?

Ovisno o specifičnim potrebama razmatra se nekoliko pitanja:

- Prijenosni ili stacionarni uređaj?
- Procesna, terenska ili laboratorijskih mjerenja?
- Točnost, brzina i održavanje instrumenta?

1. Procesni analizatori

Kontinuirano praćenje u proizvodnji pitke vode potvrđuje skladnost i pruža informacije o poremećajima u procesu. Također, kontinuiranim praćenjem sustava za pročišćavanje otpadnih voda optimizira se proces u realnom vremenu. Ako je potrebno imati trenutnu informaciju o mutnoći, najbolje rješenje je kontinuirani analizator mutnoće.

Osim što pruža kontinuirane analize, procesni analizatori mutnoće su jednostavni za upotrebu, točni i zahtijevaju malo održavanja. Također eliminiraju pogreške pri uzorkovanju i pogreške analitičara. Pravilno uzorkovanje, priprema i rukovanje uzorcima ključni su za laboratorijska mjerenja u kojima taloženje uzoraka, pogrešna orijentacija i nesavršenosti staklenih ćelija mogu utjecati na mjerenje. Procesnim analizatorima izbjegavaju se navedeni problemi. Održavanje i umjeravanje analizatora u suvremenim jedinicama olakšani su automatskim rutinama čišćenja i novim standardima mutnoće.

2. Laboratorijska mjerenja

Stolni turbidimetri svestrani su za mjerenje mutnoće uzorka. Bilo da se radi o povremenim analizama sirove ili vode nakon taloženja, umjeravanju procesnih analizatora mutnoće ili praćenju usklađenosti, stolni turbidimetar u pravilu je najbolje rješenje za mjerenje većeg broja uzoraka koji dolaze s više lokacija.

Stolni turbidimetri mogu provoditi vrlo osjetljiva nefelometrijska mjerenja za praćenje pitke vode. Nefelometrijske mjerenje s turbidimetrom omjera prikladno je za uzorke visoke mutnoće, s velikim česticama ili obojane uzorke.

3. Prenosivi uređaji

Ručna prienosna mjerila upotrebljavaju se za terenska mjerenja kao što je brza analiza površinskih i oborinskih voda, oštećenja na gradilištima ili provjere u sustavu distribucije pitke vode. Pružaju informacije o mutnoći za potrebe dokazivanja i otkrivanja poremećaja.

Terenska mjerenja smanjuju potrebu za prikupljanjem uzoraka za analizu u laboratoriju s više dislociranih mjesta. Podatci se bilježe (logiraju) za svako mjerenje i lako prenose na računalo na daljnju obradu.

Literatura

- Tyndallov efekt, Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2020., URL: <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=62897> (p).
- Turbidimetrija, Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2020., URL: <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=62723> (pristupljeno 21.11.2020.).
- Nefelometrija, Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2020., URL: <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=43234> (pristupljeno 21.11.2020.).
- URL: <https://www.hach.com/turbidity-article-turbidity101> (pristupljeno 21.11.2020.).
- URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Formazine> (pristupljeno 21.11.2020.).
- E. W. Rice, The preparation of formazin standards for nephelometry, *Analytica Chimica Acta* **87** (1976) 251–253, doi: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)83146-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)83146-9).
- URL: <https://encyclopedia.che.engin.umich.edu/Pages/ProcessParameters/Turbidimeters/Turbidimeters.html> (pristupljeno 21.11.2020.).
- URL: <https://www.hach.com/industries/drinking-water/turbidity> (pristupljeno 21.11.2020.).
- URL: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Nefelometar> (pristupljeno 21.11.2020.).
- URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Turbidity> (pristupljeno 21.11.2020.).
- URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Turbidity#Measurement> (pristupljeno 21.11.2020.).