

# **ANALITYKA ZANIECZYSZCZEŃ ŚRODOWISKA ROK V SEM. IX**

**Materialy do przygotowania się do ćwiczenia laboratoryjnego pt.:**

**OZNACZANIE LOTNYCH ZWIĄZKÓW  
CHLOROWCOORGANICZNYCH  
W WODZIE TECHNIKĄ BEZPOŚREDNIEGO NASTRZYKU  
PROBKI DO KOLUMNY (DAI-ECD)**

**Prowadzący Ćwiczenie Dr inż. Żaneta Polkowska**

# OZNACZANIE LOTNYCH ZWIĄZKÓW CHLOROWCOORGANICZNYCH W WODZIE TECHNIKĄ BEZPOŚREDNIEGO NASTRZYKU PROBKI DO KOLUMNY (DAI-ECD)

*(na podstawie rozdziału w skrypcie – Metody instrumentalne w kontroli zanieczyszczeń  
środowiska – T. Górecki)*

## **Wprowadzenie**

Chlorowanie wody pitnej jest, jak dotąd, najpowszechniej stosowaną metodą dezynfekcji. Oprócz wielu niewątpliwych zalet metoda ta ma jednak również istotną wadę – w obecności tzw. Prekursorów w procesie chlorowania powstają trihalogenometany (THM), spośród których przeważa chloroform. Związek ten ma udowodnione zwierzętach działanie rakotwórcze. Prekursorami THM w wodzie są przede wszystkim tzw. humusowe wypłukiwane z gleby, a więc obecne zawsze w wodach z ujęć powierzchniowych. Trihalogenometany powstają z prekursorów na drodze reakcji haloformowej. Oprócz THM w procesie chlorowania wody powstają w mniejszych ilościach również inne związki chlorowcoorganiczne.

Dodatkowym zagrożeniem jest powszechne stosowanie chlorowcowanych węglowodorów w przemyśle (głównie jako rozpuszczalniki). Wypadki przy pracy czy też zwykłe zaniedbania mogą powodować skażenie zarówno wód powierzchniowych, jak i głębinowych.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, dopuszczalna zawartość lotnych związków chlorowcoorganicznych w wodach pitnych jest bardzo niska. Przykładowo w Polsce obowiązuje od maja 1990 roku norma dopuszczająca 30 µg/l (ppb) chloroformu i tylko 5 µg/l tetrachlorku węgla [1]. Wielkości te są zbliżone do zaleceń Światowej Organizacji Zdrowia (WHO).

Istnieje szereg metod umożliwiających oznaczenie lotnych związków chlorowcoorganicznych w wodach na tak niskim poziomie. W większości przypadków wykorzystują one izolację i zagęszczanie lotnych analitów przed właściwą analizą [2]. Najczęściej stosowanymi metodami są:

- analiza fazy nadpowierzchniowej (headspace),
- zagęszczanie na stałych sorbentach,
- ekstrakcja cieczą ,
- ekstrakcja gazem ( stripping, purging ).

Wszystkie te metody pozwalają oznaczyć lotne związki chlorowcoorganiczne w wodach na wymaganym poziomie. Są one jednak w większości przypadków trudne i pracochłonne. Z wyjątkiem analizy fazy nadpowierzchniowej wszystkie metody obejmują szereg etapów pośrednich, co może być przyczyną niskiej precyzji oznaczeń. Oznaczane związki są izolowane do matrycy, która sama może je zawierać ( rozpuszczalnik w ekstrakcji ciecz – ciecz, stały sorbent, gaz ), co z kolei może powodować problemy z dokładnością uzyskanych wyników. Z wymienionych wyżej metod jedyną nadającą się do automatyzacji jest analiza fazy nadpowierzchniowej. Istotną wadą tej metody jest jednak kłopotliwa kalibracja.

**Tabela 1. Porównanie różnych metod oznaczeń lotnych związków chlorowcoorganicznych w wodach pitnych [ 3 ]**

Cecha	DAI -ECD	Ekstrakcja cieczą	Purge and Trap	Head Space
Prostota	+++	-	-	+++
Szybkość	+++	-	--	+++
Przydatność do poszczególnych grup	Grupa A -- Grupa B +++ Grupa C +++	-- +/- ++	+/- ++ ++	+/- +++ ++
Rzetelność wyników	Grupa A -- Grupa B +++ Grupa C +++	-- +/- ++	+/- ++ ++	+/- ++ ++
Czułość (wszystkie grupy)	+++	++	++	+++

Grupa A – bardzo lotne ( np. chlorek winylu )

Grupa B – lotne ( np. z zakresu od chlorku metylenu do tetrachloroetylenu )

Grupa C – trudniej lotne (np. dichlorobenzeny )

+++ metoda bardzo korzystna pod danym względem

++ metoda korzystna

+/- metoda o zróżnicowanych korzyściach

- metoda o niewielkich niedogodnościach

-- metoda o znanych niedogodnościach

W przypadku analizy próbek wód pitnych doskonałą alternatywą dla omawianych metod jest metoda bezpośredniego nastrzyku próbki wody ( ang. Direct Aqueous Injection – DAI )

do kolumny kapilarnej z zastosowaniem detektora wychwytu elektronów (ang. Elektron Capture Detector – ECD ). Oprócz tego ,że jest to metoda szybka, prosta i łatwa do automatyzacji, zapewnia ona bardzo rzetelne wyniki ilościowe nawet dla lekkich związków chlorowcoorganicznych, takich jak dichloroetylen, chlorek metylenu czy chloroform. W tabeli 1 porównano wszystkie omawiane metody oznaczania związków chlorowcoorganicznych w wodach [3].

### **Metoda bezpośredniego nastrzyku próbki wody (DAI)**

#### *Dozownik*

Analiza techniką DAI – ECD jest możliwa jedynie przy zastosowaniu dozownika umożliwiającego bezpośredni nastrzyk do kolumny kapilarnej na zimno (ang. cold on-column). Zastosowanie dozowników, w których następuje odparowanie próbki ( np. splitless lub PTV – dozownik pozwalający na programowe odparowanie próbki ), powoduje znaczne rozmycie i zaburzenie kształtu pików ze względu na bardzo dużą początkową szerokość pasma.

Idea stosowania nastrzyku bezpośrednio do kolumny kapilarnej jest niemal tak stara, jak same kolumny kapilarne. Nastrzyk on-column był proponowany przez Zlatkina w 1962 roku i przez Desty'ego w 1964 roku. Niestety, ze względu na błędne zrozumienie zjawisk mających miejsce w kolumnie kapilarnej nie była ona poważnie traktowana przez następne 15 lat. Powodem było przekonanie, że ilość próbki, którą można wprowadzić do kolumny kapilarnej, jest bardzo mała. Prawdziwe zaś jest stwierdzenie, że ilość pojedynczego składnika wprowadzonego do kolumny powinna być dostosowana do ilości fazy stacjonarnej w kolumnie. W praktyce oznacza to, że jeśli dany składnik występuje na poziomie śladowym, wówczas ilość próbki wprowadzonej do kolumny może być duża, a mimo to nie dojdzie do przeładowania kolumny oznaczonym składnikiem (oczywiście nie dotyczy to pików składników głównych, w przypadku których zawsze wystąpi przekroczenie pojemności kolumny). Przełom nastąpił w roku 1978, kiedy to w wyniku prac K. Groba został opatentowany pierwszy dozownik typu cold on-column. Jest on stosowany w chromatografach firmy Carli Erba Strumentazione. Dozownik ten, oprócz układu tzw. wtórnego chłodzenia, które jest włączone do kolumny na zimno, tzn.:

- wprowadzenie próbki do kolumny w warunkach całkowicie wykluczających parowanie próbki w igle strzykawki – zapobiega to tzw. dyskryminacji ciężkich składników próbki, która występuje zawsze w dozownikach powodujących odparowanie próbki;

- rozpoczęcie odparowania próbki dopiero po osadzeniu jej na ściankach kolumny i usunięciu strzykawki.

### *Kolumna*

Możliwe są dwa sposoby oddzielenia wody od lotnych związków chlorowcoorganicznych. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej z fazą polarną woda wykazywać będzie dużą retencję ze względu na silne oddziaływania z fazą stacjonarną.

W takim przypadku większość słabo polarnych związków chlorowcoorganicznych opuszczać będzie kolumną przed pikiem wody. Zawsze jednak występować będzie ryzyko, że któryś ze związków o temperaturze wrzenia wyższej od wody, lecz o mniejszej polarności, będzie eluował razem z wodą. Alternatywne podejście polega na zastosowaniu fazy całkowicie niepolarnej. Woda jest niekompatybilna z fazami tego typu i praktycznie nie wykazuje na nich retencji. Możliwe jest więc oddzielenie wody przed związkami organicznym. W przypadku związków lotnych o temperaturach wrzenia dużo niższych od temperatury wrzenia wody konieczne jest jednak stosowanie bardzo grubego filmu fazy stacjonarnej – ok. 5  $\mu\text{m}$  (normalnie w kolumnach typu WCOT stosuje się filmy fazy stacjonarnej o grubości od ok. 0,1 do ok. 1  $\mu\text{m}$ ). Tak gruby film powoduje, że nawet bardzo lotne związki organiczne wykazują stosunkowo dużą retencję. Jest to jednak okupione niską sprawnością kolumny. W przypadku analizowania związków o wyższych temperaturach wrzenia zaleca się stosowanie kolumn cieńszym filmie niepolarnej fazy stacjonarnej.

Bardzo duży wpływ na jakość rozdziału ma początkową długość pasma dozowanej próbki. Długość ta zależy przede wszystkim od szybkości przejścia próbki z fazy ciekłej do fazy gazowej, a to z kolei zależy będzie od szybkości nastrzyku, temperatury nastrzyku i objętość dozowanej próbki. W przypadku oznaczeń na poziomie śladowym konieczne jest stosowanie dużych objętości próbki – rzędu kilku mikrolitów. Zastosowanie wtórnego chłodzenia pozwala na prowadzenie nastrzyku w temperaturze nieco wyższej od temperatury wrzenia rozpuszczalnika, dzięki czemu odparowanie próbki jest bardzo efektywne. Przy dużych objętościach próbki nie można jednak uzyskać wystarczająco wąskiego pasma. Ze względu na słabą rozpuszczalność niepolarnych związków organicznych w wodzie, niemożliwe jest zastosowanie tzw. efektu rozpuszczalnika do zawężenia pasma próbki. W takich przypadkach konieczne jest zastosowanie tzw. pułapki retencyjnej (ang. retention gap). Pułapka retencyjna to po prostu odcinek pustej kapilary (przedkolumna) dołączony przed właściwą kolumną chromatograficzną. Działanie pułapki jest następujące. Próbka po zadozowaniu w temperaturze niższej od temperatury wrzenia rozpuszczalnika (głównego składnika) rozplywa się po ściankach przedkolumny. Po opuszczeniu strefy wtórnego chłodzenia (a później po

całkowitym jego wyłączeniu) rozpoczyna się intensywne parowanie, gdyż temperatura pieca chromatografu jest wyższa od temperatury wrzenia rozpuszczalnika. Stopniowe parowanie dużej ilości próbki powoduje powstanie bardzo długiego, rozmytego pasma. W przedkolumnie wszystkie związki obecne w fazie gazowej migrują z jednakową prędkością ze względu na brak jakichkolwiek oddziaływań. Po wejściu do właściwej kolumny chromatograficznej, której ścianki pokryte są filmem fazy stacjonarnej silnie oddziaływującej ze związkami organicznymi, następuje gwałtownie „wyhamowanie” ruchu tych związków na skutek rozpuszczania w fazie stacjonarnej. Dzięki temu cząsteczki związków znajdujące się nawet na końcu pasma w przedkolumnie są w stanie „dogonić” cząsteczki migrujące na początku pasma. Powoduje to bardzo silne zawężenie („zogniskowanie”)pasma, co ma bardzo korzystny wpływ na sprawność układu chromatograficznego. Pamiętać jednocześnie należy, że woda nie jest wyhamowanym ze względu na brak oddziaływań (niekompatybilność) z fazą stacjonarną.

Dodatkową zaletą stosowania przedkolumny jest ochrona właściwej kolumny przed nielotnymi związkami obecnymi w próbce (np. związki składające się na twardość wody lub nielotne związki organiczne).Pusta przedkolumna jest wielokrotnie tańsza od właściwej kolumny, więc w przypadku zanieczyszczenia można sobie pozwolić po prostu na odłamanie początkowego jej odcinka o długości kilku centymetrów.

Na surowej powierzchni kapilary kwarcowej jest bardzo wiele miejsc aktywnych, które mogą oddziaływać ze związkami polarnymi .Dotyczy to przede wszystkim wody , która może w takich kapilarach eluować stosunkowo wolno. Powodowałyby to silne ogonowanie piku wody, a co za tym idzie trudności w oddzieleniu lotnych związków chlorowcoorganicznych. Celem zapobieżenia temu zjawisku konieczne jest stosowanie przedkolumn dezaktywowanych. Z tego samego powodu wskazane jest, aby właściwa kolumna była również dodatkowo dezaktywowana po pokryciu filmem fazy stacjonarnej. Ze względu na olbrzymią czułość detektora wychwyty elektronów film fazy stacjonarnej powinien być immobilizowany po przez sieciowanie i związany z podłożem. Kolumna chromatograficzna powinna być połączona z przedkolumna złączką o zerowej objętości martwej. Najlepiej do tego celu nadają się proste złączki szklane, w których kapilary kwarcowe mocowane są na wcisk ( ang. press-fitconnectors). Złącze jest szczelne dzięki warstwie elastycznego lakieru poliamidowego, którym pokryte są kapilary kwarcowe.

*Detektor wychwyty elektronów ( ECD )*

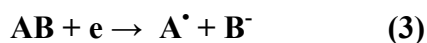
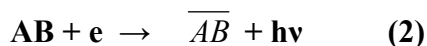
Detektor wychwytu elektronów ( ang. Elektron Capture Detektor-ECD ) wykorzystuje absorpcje elektronów w fazie gazowej przez cząsteczki elektronofilowe. Podstawowym jego elementem jest komora jonizacyjna z dwoma elektrodami. W komorze umieszczone jest źródło radioaktywne emitujące promieniowanie  $\beta$  (elektrony). Elektrony pierwotne emitowane przez źródło zderzają się z cząsteczkami gazu w detektorze, powodując jonizację połączoną z emisją wtórnych elektronów i tworzeniem jonów dodatnich:



gdzie: M – oznacza cząsteczka gazu,

e – elektron.

Pomiędzy elektrody w komorze przyłożone jest pewne napięcie. W wytworzonym polu elektrycznym elektrony szybko migrują do anody, co powoduje stały przepływ prądu o natężeniu kilku nA. Prawdopodobieństwo rekombinacji jonów dodatnich z wolnymi elektronami jest znikomą małą. Wielkość prądu płynącego przez detektor ulega zmniejszeniu, jeśli przez detektor przechodzą cząsteczki wykazujące powinowactwo do elektronów. W takim przypadku zachodzi absorpcja wolnych elektronów przez te cząsteczki, zgodnie z jednym z równań :



W przypadku (2) powstaje naładowany ujemnie jon cząsteczkowy, a w przypadku (3) poza absorbowaniu elektronu cząsteczka ulega dysocjacji na wolny rodnik  $A^\bullet$  i ujemnie naładowany jon  $B^-$ . Wytworzone jony ujemne ulegają następnie neutralizacji (rekombinacji) z jonami dodatnimi  $M^+$ . Jest to możliwe ze względu na to, że szybkość migracji jonów w polu elektrycznym jest znacznie mniejsza niż szybkość migracji elektronów. W efekcie prąd płynący przez detektor ulega zmniejszeniu, co jest sygnałem pomiarowym. Czulość i selektywność detektora wychwytu elektronów zależą od powinowactwa elektronowego związków. W przypadku związków organicznych powinowactwo elektronowe (elektronofilowość) zależy przede wszystkim od dominujących grup funkcyjnych w cząsteczce ( np. atomy chlorowców, grupy estrowe, hydroksylowe, czy inne zawierające tlen). Odpowiedź detektora może się zmieniać w granicach od 1 do  $10^7$  w zależności od charakteru cząsteczki. Z tego względu detektora musi być kalibrowany osobno na wszystkie oznaczone związki. W tabeli 2 zestawiono wartości względnej czulości dla wybranych grup związków.

Liniowy zakres dynamiczny detektora zależy od sposobu pracy. W przypadku, jeśli między elektrody przyłożone jest napięcie stałe, jest on bardzo mały i wynosi 10-100. Można go znacznie rozszerzyć przez przyłożenie do elektrod impulsów napięcia. W takim przypadku możliwe są dwa tryby pracy.

**Tabela 2. Względna czułość detektora ECD dla wybranych związków**

Związek	Względna czułość
Etan Naftalen	1
Butanol Aceton Chlorobutan Chlorobenzen	$1 - 10^2$
1,2-Dichloroetan Antracen Keto-steroidy	$10^2 - 10^4$
Chloroform Nitrobenzen	$10^4 - 10^5$
Tetrachlorek węgla Dinitrofenol Fumaran dietlu Szczawian dietlu Dihydropirydyna	$10^5 - 10^6$

#### 1. Tryb stałej częstotliwości

Między elektrody przykładają się impulsy napięcia o stałej amplitudzie i zadanym czasie trwania. W czasie trwania impulsu elektrony migrują do anody, w związku z czym ich stężenie w komorze detektora spada do zera. W okresie między impulsami stężenie elektronów stopniowo narasta do początkowej wartości, chyba że przez detektor przepływają cząsteczki elektronofilowe. Jeśli na skutek wychwytu stężenie elektronów stopniowo narasta do początkowej wartości, chyba że przez detektor przepływają cząsteczki elektronofilowe. Jeśli na skutek wychwytu stężenie elektronów w detektorze jest niższe, wówczas prąd płynący przez detektor w trakcie kolejnego impulsu jest mniejszy.

Tryb stałej częstotliwości (ang. Constant Frequency-CF) umożliwia osiągnięcie najwyższej czułości. Liniowy zakres dynamiczny odpowiedzi wynosi w tym przypadku  $10^3$



## 2. Tryb stałego prądu

W tym przypadku obwód elektroniczny utrzymuje stałą wartość prądu płynącego przez detektor. Przy zadanej amplitudzie impulsu oznacza to, że jeśli w komorze detektora wystąpi absorpcja elektronów, zwiększeniu musi ulec częstotliwość impulsów. Jest ona miarą stężenia związków elektrnofilowych.

Tryb stałego prądu ( ang. Constant Current – CC ) umożliwia osiągnięcie najszerszego liniowego zakresu dynamicznego odpowiedzi – powyżej  $10^4$ .

Do prawidłowej pracy zakresu pracy detektor ECD wymaga, aby płynął przez niego azot lub argon z dodatkiem 5 – 10 % metanu. Gaz musi być bardzo czysty ( min. 99,999% ). W przypadku kolumn kapilarnych konieczne jest stosowanie tych gazów jako tzw. gazów dodatkowych ( ang. make-up gas ) bez względu na rodzaj gazu nośnego.

W metodzie bezpośredniego nastrzyku (DAI-ECD) detektor musi pracować w jak najwyższej dopuszczalnej temperaturze. Zapobiega to poszerzaniu się piku wody, który powinien przejść przez detektor w najkrótszym możliwym czasie. Nie mniej istotny jest fakt, że podwyższenie temperatury powoduje bardzo znaczny wzrost czułości detektora (dochodzący dla niektórych związków do 100 razy na  $100^{\circ}\text{C}$ ). Dla detektorów zawierających  $\text{Ni}^{63}$  jako źródło promieniowania  $\beta$  optymalna temperatura pracy wynosi  $350^{\circ}\text{C}$ . W tabeli 3 zestawiono granice oznaczoności wybranych związków chlorowcoorganicznych przy nastrzyku 2  $\mu\text{l}$  wody [3].

**Tabela 3. Przykładowe granice oznaczoności w metodzie DAI-ECD przy nastrzyku 2  $\mu\text{l}$  wody [3]**

Związek	Granica oznaczoności ( $\mu\text{g/l}$ )
Chlorek metylenu	0,6
1,1,1-trichloroetan	0,03
Chloroform	0,02
Tetrachlorometan	0,015
Trichloroetylen	0,03
Tetrachloroetylen	0,025

## Literatura

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z 4 maja 1990 , Dziennik Ustaw Nr 35, pozycja 205.
2. Namieśnik J., Górecki T., Bizik M., Torres L. : Isolation and procentration of volatile organic compounds from water. Anal.Chem. Acta 237,1 1990.
3. Determination of Halocarbons in Drinking Water by Direct Aqueous Injection and Electron Capture Detector (DAI-ECD) Gas Chromatography. Carlo Erba Instruments. Short Notes, application sheets.