

Aneta Duda*, Jacek Czerwiński**

ZASTOSOWANIE TECHNIK INFORMATYCZNYCH W ANALIZIE ŚRODOWISKA NA PRZYKŁADZIE OZNACZEŃ CHROMATOGRAFICZNYCH

WSTĘP

Analityka środowiskowa jest od końca lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku dynamicznie rozwijającą się dziedziną techniki pomiarowej. Wykorzystuje ona wiele różnych technik analitycznych opartych zarówno o metody spektroskopowe, elektrochemiczne jak i o techniki rozdzielania skomplikowanych mieszanin – w szczególności techniki chromatograficzne. Analityka i monitoring środowiska to dwa filary nauki o środowisku i jego ochronie oraz działaniach w środowisku. Możemy wyróżnić dwie tendencje [1, 21, 22]:

- wykrywanie coraz mniejszych ilości substancji, oznaczenia coraz mniejszych stężeń analitów w próbkach środowiskowych oraz
- ciągle poszerzanie ilości (rodzajów) oznaczanych substancji.

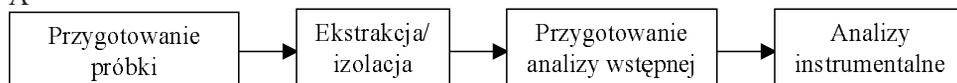
Ale również:

- opracowania i praktyczne wykorzystania nowych rozwiązań metodycznych,
- opracowania nowych rozwiązań konstrukcyjnych przyrządów pomiarowych i urządzeń analitycznych,
- pobieranie, wzbogacanie, izolacja i przygotowanie próbek środowiskowych do oznaczeń końcowych,
- kalibracja stosowanych urządzeń pomiarowych,
- wykrywanie, identyfikacja i oznaczanie agalitów,
- statystyczna obróbka wyników.

ETAPY ANALIZY INSTRUMENTALNEJ

Współczesna analiza instrumentalna obejmuje szereg etapów co przedstawia schemat [2,4]:

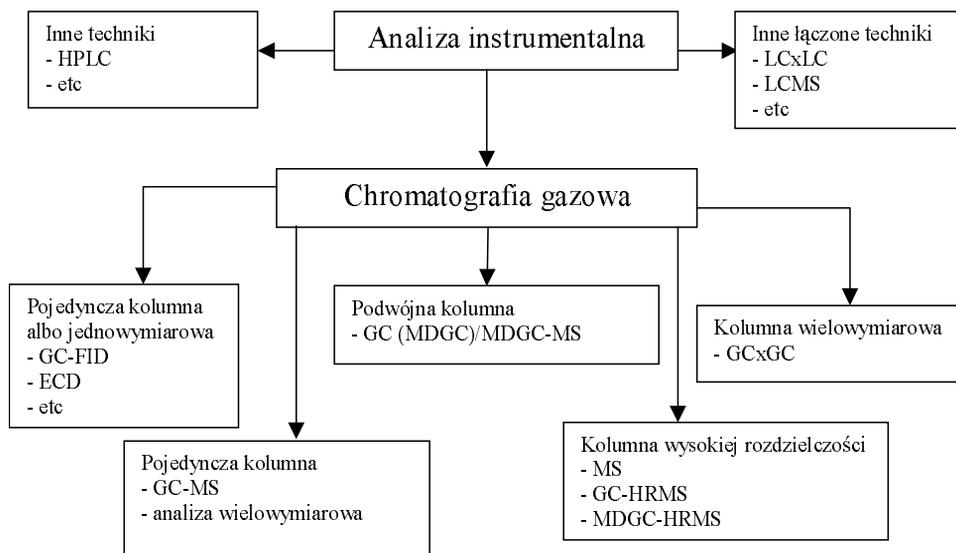
A



* Aneta DUDA – Katedra Podstaw Techniki, Wydział Podstaw Techniki, Politechnika Lubelska.

** Jacek CZERWIŃSKI – Laboratorium Analiz Środowiskowych, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Lubelska.

B



Często w monitoringu środowiska poważnym zagadnieniem jest analiza śladowa wody. W celu uzyskania informacji dotyczących składu próbki należy ją odpowiednio przygotować, ponieważ możliwość bezpośredniego nastrzykiwania próbki wody na kolumnę chromatograficzną jest ograniczona.

Ograniczenie to wynika z poniższych warunków [4, 15, 17, 18, 22]:

- stężenie oznaczanych związków jest często zbyt małe i nie osiąga granicy wykrywalności,
- stosowanych detektorów;
- woda wprowadzona na kolumnę zmienia właściwości fizykochemiczne fazy stacjonarnej, co zakłóca proces rozdzielania składników mieszaniny, a w skrajnym przypadku niszczy,
- film fazy stacjonarnej,
- zanieczyszczenia mechaniczne obecne w wodzie w postaci zawiesiny mogą uszkodzić kolumnę lub spowodować jej zatkanie,
- obecność wody, w odniesieniu do niektórych detektorów, może zakłócić pomiar,
- próbka przed wprowadzeniem na kolumnę chromatograficzną wymaga wzbogacenia, analitów i wymiany matrycy na bardziej korzystną z punktu widzenia oznaczeń wybraną techniką chromatograficzną.

Najszerzej stosowaną jest *chromatografia gazowa* dająca możliwości rozdzielenia mieszanin związków organicznych. Wykorzystując ją w monitoringu zanieczyszczeń środowiska uzyskać można istotne informacje, służące do [3, 7–12]:

- oceny aktualnej sytuacji ekologicznej na danym obszarze;
- zbilansowania transportu materii;

- wyjaśnienia wpływu zanieczyszczeń środowiska na zdrowie człowieka;
- wyjaśnienia przyczyn zanieczyszczenia elementów środowiska;
- badania dróg przemieszczania się oraz transportu zanieczyszczeń;
- wskazania metod zapobiegania zanieczyszczeniom środowiska;
- monitoringu i badań transformacji oraz konwersji zanieczyszczeń środowiska;
- oceny kierunków zmian poziomu stężeń składników występujących w poszczególnych elementach środowiska.

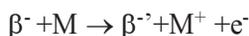
W przypadku chromatografii gazowej największy postęp zaznaczył się w budowie detektorów w szczególności detektorów selektywnych i specyficznych [3, 5, 14]. Wśród detektorów możliwych do zastosowania w analizach próbek środowiskowych można wyróżnić trzy grupy:

- detektory czule na obecność chlorowców chlorowców cząsteczce (ECD, EICD),
- detektory czule na obecność siarki (FPD, EICD, SCD),
- detektory oparte o techniki spektroskopowe (MS, AED).

DETEKTOR WYCHWYTU ELEKTRONÓW – ECD

Detektor wychwytu elektronów – ECD (*Electron Capture Detector*) jest najbardziej rozpowszechnionym detektorem selektywnym powszechnie wykorzystywanym w analizie śladów związków organicznych, zwłaszcza w próbkach środowiskowych i biochemicznych. ECD jest bardzo czuły na związki zawierające atomy o dużym powinowactwie elektronowym, a w szczególności na związki chlorowcoorganiczne. Detektor ten opracowany przez Lovelocka odegrał istotną rolę w oznaczaniu poziomu freonów w atmosferze, co było ważne do potwierdzenia ich roli w niszczeniu stratosferycznej warstwy ozonowej [14, 18].

Zasada działania detektora jest oparta na zjawisku absorpcji elektronów przez cząsteczki elektrofilowe. Podstawowym elementem detektora, jest komora jonizacyjna z dwiema elektrodami z umieszczonym w niej źródłem promieniowania β^- to jest (tryt lub ^{63}Ni). Elektrony pierwotne emitowane przez źródło zderzają się z cząsteczkami gazu w detektorze, powodując jonizację połączoną z emisją wtórnych (wolnych) elektronów i tworzeniem jonów dodatnich



Między elektrodami w komorze jest przyłożone pewne napięcie, co powoduje szybką migrację elektronów w kierunku anody i pojawienie się prądu tła ($\sim 1(1^{-8}\text{A})$). Prawdopodobieństwo rekombinacji jonów dodatnich z wolnymi elektronami jest znikomo małe. Jeśli w eluacie z kolumny pojawią się cząsteczki elektrofilowe (np. zawierające atomy chlorowców), to wychwytyują one znajdujące się w komorze jonizacyjnej wolne elektrony dając mierzony sygnał w detektorze.

SIARKOWY DETEKTOR FLUORESCENCYJNY – SCD

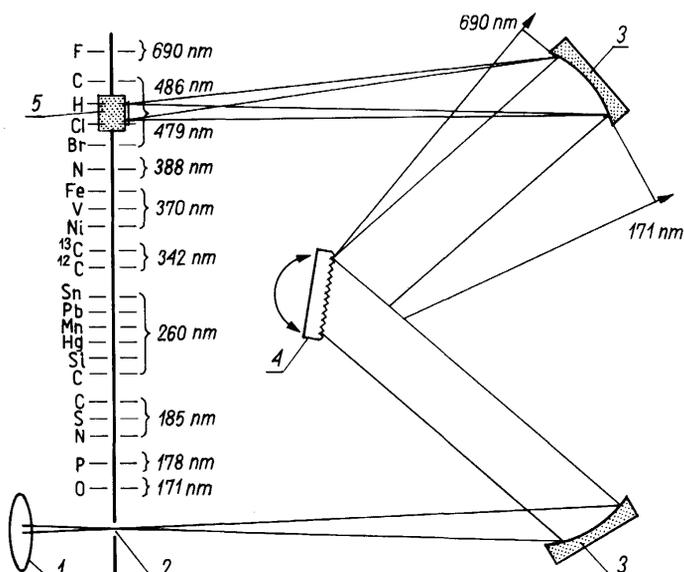
Siarkowy detektor chemiluminescencyjny (SCD) [14] został opracowany przez Parksa na początku lat osiemdziesiątych XX wieku jest jedną z najlepszych technik za pomocą której, można oznaczyć związki zawierające atomy siarki. Zasada działania pierwszych detektorów SCD opierała się o spalanie związków siarki w redukującym płomieniu palnika detektora. Warunki spalania były tak dobrane, że produktem spalania jest tlenek siarki SO. Produkty spalania następnie zasysano ceramicznym próbnikiem do komory reakcyjnej gdzie następowała reakcja SO z tritlenem O₃ w wyniku której powstaje wzbudzony ditlenek siarki SO₂*. Elektrony we wzbudzonym SO₂* powracając do stanu podstawowego emitują promieniowanie w zakresie 260–480 nm z maksimum przy długości fali $\lambda \approx 360$ nm. Intensywność tego promieniowania rejestrowana przez fotopowielacz i stanowi sygnał analityczny w detektorze.

Dla złagodzenia zmian czułości i selektywności detektora w zależności od związku chemicznego firmy *Antek Instruments Inc.* i *Sievers Research Inc.* wprowadziły detektory z bezpłomieniową komorą spalania. Bezpłomieniowe SCD wykazują szerszy zakres operacyjny lepszą precyzję oraz czułość wyższą o rząd wielkości. W odróżnieniu od mechanizmu proponowanego przez Shearera zasada działania opiera się o dwustopniową reakcję postkolumnową. Wymywające się z kolumny chromatograficznej związki siarkoorganiczne są najpierw utleniane do SO₂ i innych tlenków a następnie zredukowane do H₂S w znacznym nadmiarze wodoru. Siarkowodor i inne produkty redukcji są następnie przenoszone do komory reakcyjnej gdzie siarkowodor jest utleniany za pomocą tritlenu do elektronowo wzbudzonego ditlenku siarki SO₂*.

Detektor SCD wykazuje niemalże ekwimolarną odpowiedź na wszystkie związki siarkoorganiczne a jako substancja wzorcująca detektor jest wykorzystywany dibenzotiofen, dla którego współczynnik odpowiedzi przyjęto jako 1. Współczynniki odpowiedzi dla innych związków są bliskie jednościami co czyni go szczególnie przydatnym przy określaniu całkowitej zawartości siarki (w tym związków siarkoorganicznych w środowisku).

DETEKTOR EMISJI ATOMOWEJ – AED

Detektor emisji atomowej AED (*Atomie Emission Detector*) jest szczególnie typem detektora, gdyż jest to jednocześnie detektor uniwersalny (nadaje się do analizy wszystkich typów związków) i specyficzny, bo umożliwia badanie zawartości poszczególnych pierwiastków w składnikach próbki. AED jest szczególnie przydatny do analizy próbek środowiskowych, produktów petrochemicznych, dodatków do polimerów i zawsze kłopotliwych w analizie związków metaloorganicznych [11–14, 21]. Zasada działania detektora, którego budowę przedstawiono na rys. 1 [14], jest następująca: rozdzielone na kolumnie chromatograficznej składniki próbki wprowadza się do indukowanej mikrofalowo plazmy helowej o temperaturze w zakresie 3000–10000 K,



Rys. 1. Schemat działania detektora emisji atomowej AED [14]

1 – soczewka, 2 – szczelina, 3 – zwierciadło, 4 – obrotowa siatka dyfrakcyjna, 5 – ruchoma fotodioda

która powoduje rozpad cząsteczek na wzbudzone atomy. Elektrony wzbudzonych atomów, wracając do niższych stanów energetycznych, emitują promieniowanie charakterystyczne dla danego pierwiastka. Promieniowanie, które trafia do części optycznej detektora, ulega rozszczepieniu na siatce dyfrakcyjnej na charakterystyczne długości fal, rejestrowane przez pozycjonowaną matrycę fotodiod.

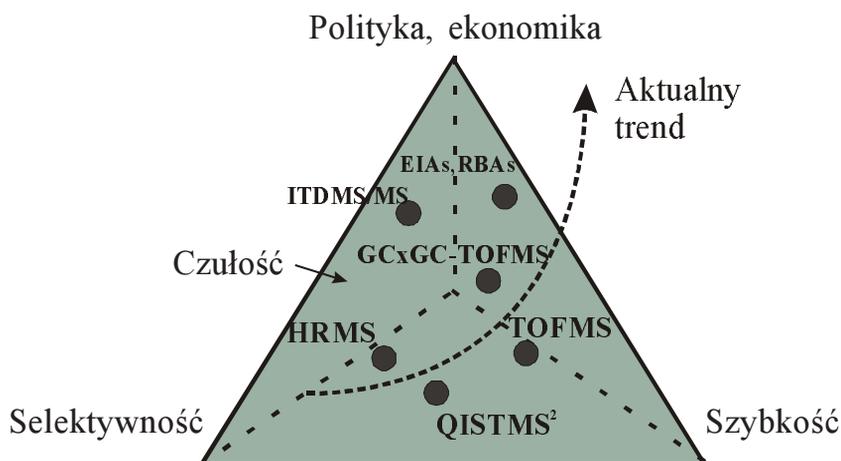
Hel, z którego wytwarzana jest plazma mikrofalowa, i który jest jednocześnie gazem nośnym, musi być bardzo wysokiej czystości, minimum 99,9999% tzn., że suma wszystkich zanieczyszczeń w nim zawartych musi być niższa od 1 ppm. W tabeli 1 zestawiono pierwiastki najczęściej oznaczane za pomocą detektora AED i podstawowe parametry pracy detektora (długość fali wykrywanego promieniowania oraz dodawane w śladowych ilościach gazy reakcyjne zwiększające czułość detektora). Detektor umożliwia wykonanie oznaczeń maksymalnie czterech pierwiastków w czasie jednej analizy chromatograficznej. Najczęściej praktykowane jest jednoczesne oznaczanie węgla, wodoru, chloru i bromu. Informacje uzyskiwane z detektora AED są komplementarne z widmami otrzymywanymi za pomocą tandemów GC-MS i GC-FTIR.

Tabela 1. Charakterystyka detektorów stosowanych w analityce zanieczyszczeń środowiska [11–14]

Typ	Selektywność (specyficzność)	Destrukcyjność	T _{max} [°C]	Granica oznaczalności	Liniowy zakres dynamiczny odpowiedzi
Detektory czule na chlorowiec					
ECD	tak	N	350		10 ³
ECD*	tak	N	350		10 ³
EICD	tak	D	350		10 ⁴
Detektory czule na siarkę					
FPD*	10 ³ ÷10 ⁶ gC/gS	D	400	10 ⁻¹¹ g S/s	10 ³
EICD	>10 ⁴ gC/gS	D	350	10 ⁻¹¹ g S/s	10 ⁴
SCD	>10 ⁶ gC/gS	D	420	10 ⁻¹² g S/s	10 ⁵
nfSCD	>10 ⁷ gC/gS	D	bez ograniczeń	10 ⁻¹³ g S/s	10 ³
Detektory uniwersalne (spektroskopowe)					
AED	10 ⁴ ÷10 ⁵ gC/gS	D	350	10 ⁻¹³ g S/s	10 ⁵
MS	uniwersalny		350	10 ⁻¹³ g S/s	10 ⁴

TECHNIKI SPRĘŻONE (GC-MS)

Metody oznaczeń końcowych opierają się wykorzystującą chromatografię gazową z detekcją wykorzystującą wysokorozdzielczą spektrometrię mas. Z uwagi na wysokie koszty eksploatacyjne tego typu systemów Wydaje się być możliwe zastosowanie detekcji z wykorzystaniem detektora emisji atomowej – AED (pozwalają na to podawane przez producenta granice oznaczalności dla poszczególnych pierwiastków), ale dotychczas nie opublikowano prac z zastosowaniem tego typu układu detekcji. Istnieje również możliwość zastosowania spektrometru mas niskiej rozdzielczości do oznaczania tej klasy związków. Jedną z możliwości jest przekształcenie siarkowych analogów dioksyn w sulfony, które znacznie różnią się czasami retencji a także w zdecydowanie inny sposób fragmentują w spektrometrach masowych [7, 12, 13, 15, 19]. Korzystnym wyjściem jest zastosowanie niskiej rozdzielczości spektrometru mas, który może pracować w układzie MS/MS. Wówczas można wtórnie fragmentować wybrany jon analityczny (niekoniecznie jon macierzysty) i na podstawie tej fragmentacji dokonywać analizy zarówno jakościowej i ilościowej. Trendy warunkach zastosowaniu MS jako oznaczenia końcowego przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Trendy rozwojowe warunkach zastosowaniu spektrometrii mas na etapie oznaczeń końcowych [9]

BIBLIOTEKI WIDM

Aby system GC-MS lub LC-MS mógł by wykorzystywany do w celu identyfikacji nieznanymi związków na podstawie widm ze spektrometru mas musi być wyposażony w bibliotekę widm. Komercyjnie dostępne biblioteki i ich charakterystyki zamieszczono w tabeli 2.

Tabela 2. Komercyjnie dostępne biblioteki widm masowych [8, 9]

Biblioteki widm	Zawartość	Zastosowanie	Widma MS/MS	Uwagi
NIST 2005	ponad 190 000 widm EI	ogólne organiczne	5191 widm MS/MS	baza indeksów retencji dla 121 000 związków
Hormonów	5900 widm estrogenów androgenów i steroidów	analiza hormonów	brak	brak
Wiley Registry 8 th Ed.	400000 związków	ogólne organiczne	brak	baza indeksów retencji
Maurer Pflieger Weber Library 2007	7840 związków	leki, trucizny pestycydy	brak	brak
Palisade 600 K	600000 widm związków	ogólne	brak	największa baza widm umożliwiająca systematyczne subskrybowanie

Oprócz baz komercyjnych możliwe jest również wykorzystanie baz internetowych. Wadą ich stosowania jest brak możliwości porównywania widm, za pomocą przeglądarki i ustalenie prawdopodobieństwa sukcesu – tj zidentyfikowania nieznanego związku. Bazy te umożliwiają wyszukiwanie na podstawie wzoru lub nazwy i są one dostępne pod adresami:

- <http://webbook.nist.gov/chemistry/> – ok. 15000 widm;
- http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi – ok. 23500 widm.
- bezpłatna baza ok. 2500 widm masowych, głównie do celów kryminalistycznych, w formacie HP ChemStation: http://minyos.its.rmit.edu.au/~rcmfa/Library/ms_library.htm

PODSUMOWANIE

Metody analiz środowiskowych wykazują zastosowanie w bazach widm masowych. Z powodzeniem można je wykorzystywać w urządzeniach coraz powszechniej dostępnych w laboratoriach analitycznych o tyle zarówno widma IR jak i innych technik sprzężonych nie są jeszcze powszechnie dostępne w postaci tak obszernych bibliotek. Bazy internetowe niestety nie dają możliwości porównywania widm, ale umożliwiają wyszukiwanie na podstawie wzoru lub nazwy. Dostępne są pod następującymi adresami:

- NIST Webbook: <http://webbook.nist.gov/chemistry/> – ok. 16000 widm IR,
- baza danych SDBS,
- http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi – ok. 50500 widm FT-IR,
- katalog odczynników firmy Sigma-Aldrich,
- http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Europe_Home/Poland.html – widma IR są dostępne dla dużej części odczynników oferowanych przez firmę Sigma-Aldrich.

Literatura

1. Namieśnik J., Chrzanowski W., Szpinek P.: „Nowy horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym”, Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2003.
2. Namieśnik J.: „Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Gdańsk 2007.
3. Namieśnik J., Jamrógiewicz Z.: „Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska”, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1998.
4. Namieśnik J., Jamrógiewicz Z., Pilarczyk M., Torres L.: „Przygotowanie próbek środowiskowych do analiz”, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Gdańsk 2000.
5. Czerwiński J., Dudzińska M.R., Rut B., (2003): „GC MS/MS screening of dioxin-like compounds on the example of polychlorinated dibenzthiophene – thio-analogues of polychlorinated dibenzofuranes”, *Organohalogen Compounds*, 60, 462–465.

6. Wiedmann T., Schimmel H., Ballschmiter, K.-H., (1998): „Ion trap MS/MS of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans: confirming the concept of the molar response”, *Fresenius. J. Anal. Chem.*, 360; 117–119.
7. Michalski R.,: „Chromatografia jonowa. Podstawy i zastosowania.” Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2005.
8. <http://www.separationsnow.com>
9. <http://www.spectroscopynow.com>
10. Michalski R., (2005): „Zastosowania chromatografii jonowej w badaniach próbek medycznych, przemysłowych i spożywczych”, *Laboratorium*, 5, 28–32.
11. Andersson J.T., (2002): „Some unique properties of gas chromatography coupled with atomic emission detection”, *Anal. Bioanal. Chem.*, 373, 344–355; doi: 10.1007/s00216-002-1236-8.
12. Becker G., Colmsjö A., (1998): „Gas chromatography-atomic emission detection for quantification of polycyclic aromatic sulfur heterocycles”, *Anal. Chim. Acta*, 376, 265–272.
13. Becker G., Nilsson U., Colmsjö A., Östman C., (1998): „Determination of polycyclic aromatic sulfur heterocyclic compounds in airborne particulate by gas chromatography with atomic emission and mass spectrometric detection”, *J. Chromatogr. A*, 826, 57–66.
14. Czerwiński J., Konieczka P., (1998): „Detektory stosowane w chromatografii gazowej”, [w:] *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska*, red. J. Namieśnik i Z. Jamrógielwicz, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 141–163.
15. Focant J-F., Eppe G., Scippo M-L., Massart A-C., Pirard C., Maghuin-Rogister G., De Pauw E., (2005): „Comprehensive two-dimensional gas chromatography with isotope dilution time-of-flight mass spectrometry for the measurement of dioxins and polychlorinated biphenyls in foodstuffs. Comparison with other methods”, *J. Chromatogr. A*, 1086, 45–60, doi:10.1016/j.chroma.2005.05.090.
16. B. Gouteux, M. Lebeuf, S. Trottier, J-P. Gagné, (2002): „Analysis of six relevant toxaphene congeners in biological samples using ion trap MS/MS”, *Chemosphere*, 49, 183–191.
17. Helen C., Lemasle M., Laplanche A., Genin E., (2001): „Determination of polychlorodibenzo-*p*-dioxins and polychlorodibenzofurans by gas chromatography/tandem mass spectrometry and gas chromatography/ triple mass spectrometry in a quadrupole ion trap”, *J. Mass Spectrom.*, 36, 546–554.
18. Kannan N., Hong S.H., Oh J.R., Yim U.H., Li D., Shim W.J., (2005): „PYE [2-(1-pyrenyl)ethyl]dimethylsilylated silica] column HPLC and HR-GC-(micro) ECD in the accurate determination of toxic co-planar PCBs and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)”, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 26, 529–536.
19. Ragsdale J.D., (2002): „A robust screening method for dioxins and furans by ion trap GC-MS/MS in a variety of matrices”, *Nota aplikacyjna AN 9159*,
20. Namieśnik J., (2000): „Trends in environmental analytics and monitoring”, *Critical Rev. Anal. Chem.*, 30, 221–269.
21. Namieśnik J.,: „Trendy w analityce i monitoringu środowiskowym” [w:] *Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym*, red. J. Namieśnik i W. Chrzanowski, P. Szpinek, Centrum doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2003, 1–32.

22. María J. Lopez de Alda, Silvia Diaz-Cruz, Mira Petrovic, Damir Barceló: „Oznaczenie pozostałości wybranych środków farmaceutycznych, steroidowych hormonów płciowych oraz alkilofenolowych środków powierzchniowo czynnych w środowisku wodnym z wykorzystaniem technik LC–MS oraz LC–MS/MS” [w:] *Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym*, red. J. Namieśnik i W. Chrzanowski, P. Szpinek, Centrum doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2003, 61–78.

Streszczenie

Praca obejmuje analizę wykorzystania metod analityki środowiskowej na przykładzie oznaczeń chromatograficznych. Opisano techniki analityczne oparte zarówno o metody spektroskopowe, elektrochemiczne jak i o techniki rozdzielania skomplikowanych mieszanin – w szczególności techniki chromatograficzne. W krajach uprzemysłowionych chromatografia od początku swego istnienia znalazła znaczące miejsce w analityce chemicznej. W Polsce szybki wzrost zainteresowania metodą chromatograficzną obserwuje się od kilku lat, czego dowodem może być znacząca liczba laboratoriów badawczych i usługowych, w których wykorzystuje się chromatografię jonową.

APPLICATION OF INFORMATION TECHNOLOGY IN THE ANALYSIS OF ANALYTICAL CHEMISTRY FOR EXAMPLE DETERMINATION CHROMATOGRAPHY

Summary

The article presents the analysis of utilizing method analytical chemistry for example determination chromatography. There are described the analytic techniques based on both spectroscopic and electrochemical method like separation of complicated mixtures – especially chromatographic techniques. In industrial countries chromatography has been applied from its beginning. In Poland a quick increase of interest in chromatographic method has been observed for several years which can be proved by a large number of scientific and commercial laboratories which apply the ionic chromatography.