

Zadanie 1.

Temat. Zastosowanie chromatografii gazowej z detektorem wychwytu elektronów w analizie chlorowcopochodnych w próbkach powietrza

1. Wiadomości ogólne dotyczące pestycydów

Pestycydy to liczna i zróżnicowana grupa związków chemicznych, ich zastosowanie celnie określa nazwa powstała z połączenia dwóch łacińskich słów *pestis* – szkodnik i *cedeo* – niszczyć. Pestycydy stanowią grupę zanieczyszczeń środowiska bardzo często występujących w wodach powierzchniowych i gruntowych. Największe ich stężenia stwierdza się w okresie spływu wód roztopowych oraz wykonywania zabiegów agrochemicznych. Ważną drogą transportu pestycydów są opady atmosferyczne, za pośrednictwem których zanieczyszczeniu ulegają zbiorniki wodne znajdujące się w dużej odległości od terenów rolniczych. Wybór sposobu przygotowania próbek zależy od postaci próbki, rodzaju matrycy i analitów oraz dostępnych metod instrumentalnych. Sposób pobierania próbek wody w dużym stopniu zależy od składu chemicznego zanieczyszczeń wody i celu analizy. Pestycydy stanowiące największe zagrożenie to aldryna, dieldryna i epoksyd heptachloru. Stężenia pestycydów w wodach 0,001 µg/l nie są zagrożeniem. NSD dla sumy wszystkich pestycydów (obejmuje wszystkie oznaczone w analizie pestycydy) wynosi 0,50 µg/l. Określa to dyrektywa, która powinna być wdrożona do stosowania w listopadzie 2003 roku. Problem zagrożenia pestycydami fauny i flory wód powierzchniowych jest na tyle skomplikowany, że dotychczas opracowano na ten temat bardzo mało norm i przepisów prawnych. Polskie przepisy dotyczą jakości wód powierzchniowych i obejmują tylko trzy grupy pestycydów:

- insektycydy z grupy węglowodorów chlorowcoorganicznych - 0,05 µg/l,
- insektycydy fosforoorganiczne i karbaminianowe - dopuszczalne stężenie 1,0 µg/l.

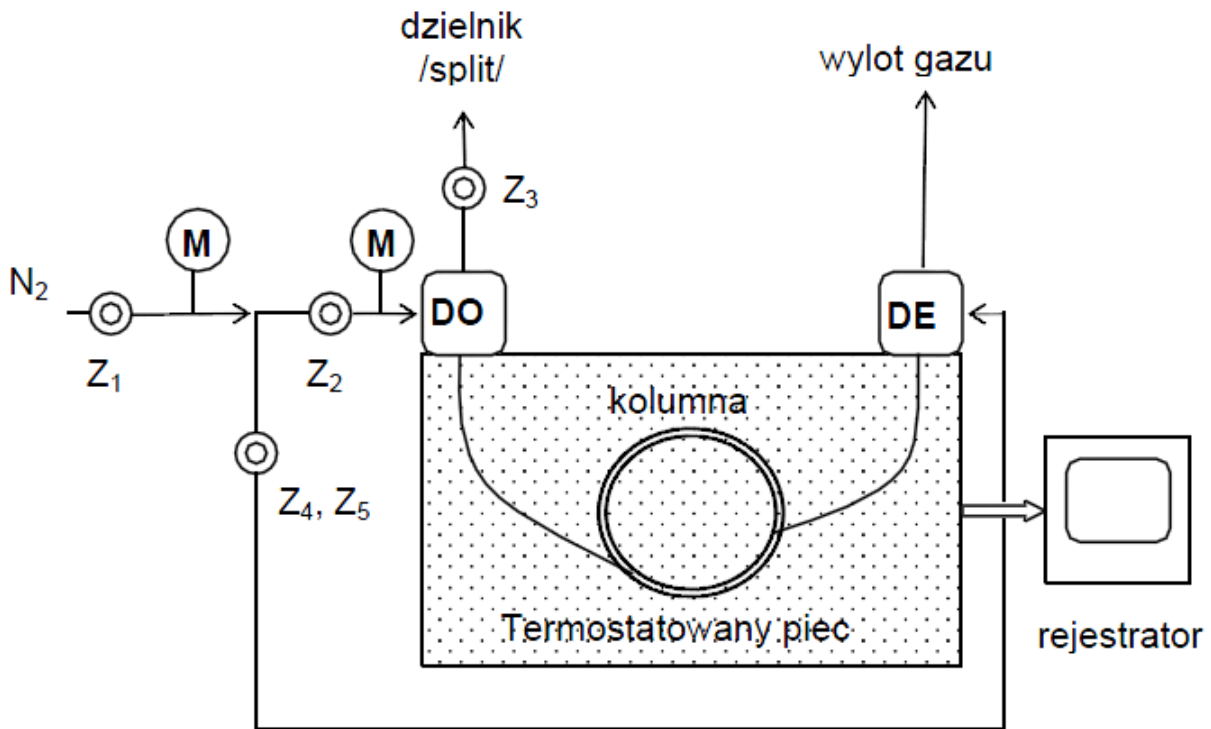
Herbicydy są to pestycydy stosowane do zwalczania chwastów. Ze względu na sposób działania herbicydy dzieli się na kontaktowe i systemiczne. Herbicydy kontaktowe niszczą rośliny w wyniku bezpośredniego kontaktu. Herbicydy systemiczne mają łagodniejsze działanie, są wchłaniane przez liście lub korzenie. Ze względu na budowę chemiczną herbicydy dzieli się na:

- karboksylowe pochodne aromatyczne
- pochodne kwasów alifatycznych
- podstawione fenole
- heterocykliczne pochodne azotowe
- alifatyczne pochodne azotowe.

2. Ogólne zasady działania chromatografu gazowego

Chromatografia gazowa jest wysokosprawną metodą rozdzielania mieszanin lotnych związków umożliwiającą ich jakościowe i ilościowe oznaczanie. Ideowy schemat chromatografu gazowego, wyposażonego w kolumnę kapilarną i detektor wychwytu elektronów (ECD) przedstawiono na rysunku poniżej.

Analizowana próbka rozcieńczona w odpowiednim rozpuszczalniku (lekki alkan C6-C8) jest wprowadzana za pomocą mikrostrzykawki do dozownika chromatografu, w który następuje jej odparowanie i wprowadzenie w strumień azotu płynącego bez przerwy przez układ analityczny chromatografu. Wraz ze strumieniem azotu próbka w stanie gazowym wpływa do kolumny chromatograficznej. Ponieważ, nawet precyzyjna mikrostrzykawka nie pozwala aplikować odpowiednio małej ilości analizowanego roztworu, wymaganej przy pracy z kolumnami kapilarnymi, dozownik wyposażony jest w mechanizm dzielenia strumienia (split) pozwalający pobrać do kolumny tylko, np. 1/100 część objętości odparowanej próbki – 99/100 części wypuszczane jest na zewnątrz. Kapilarna kolumna chromatograficzna jest to cienka kapilarna rurka, o długości zwykle kilkudziesięciu metrów z odpowiednio przygotowaną powierzchnią wewnętrzną, pokrytą termostabilną fazą organiczną o precyzyjnie dobranych właściwościach fizykochemicznych, w tym



- Z1** - zawór regulacyjny gazu nośnego (carrier pressure), poziom ciśnienia, ustawiony tym zaworem limituje przepływ przez detektor dodatkowego strumienia azotu omywającego anodę
Z2 - zawór regulujący ciśnienie azotu na wlocie kolumny (column head pressure), a tym samym wielkość przepływu przez kolumnę
Z3 - zawór regulujący wypływ gazu przez dzielnik (split)
Z4, Z5 - zawory odcinające przepływ „dodatkowych strumieni azotu (aux gas, anode purge) przez detektor, zamknięcie ich umożliwia pomiar przepływu gazu przez kolumnę
DO - dozownik
DE – detektor

polarności. Właśnie oddziaływanie pomiędzy przepływającymi wraz z gazem nośnym parami rozdzielanych substancji, a aktywną fazą kolumny leży u podstaw ich separacji. Związki o dużym powinowactwie do fazy aktywnej kolumny oraz wysokowrzące z natury przemieszczają się wzdłuż kolumny wolniej. Skuteczności rozdziału chromatograficznego sprzyjają odpowiednio dobrane:

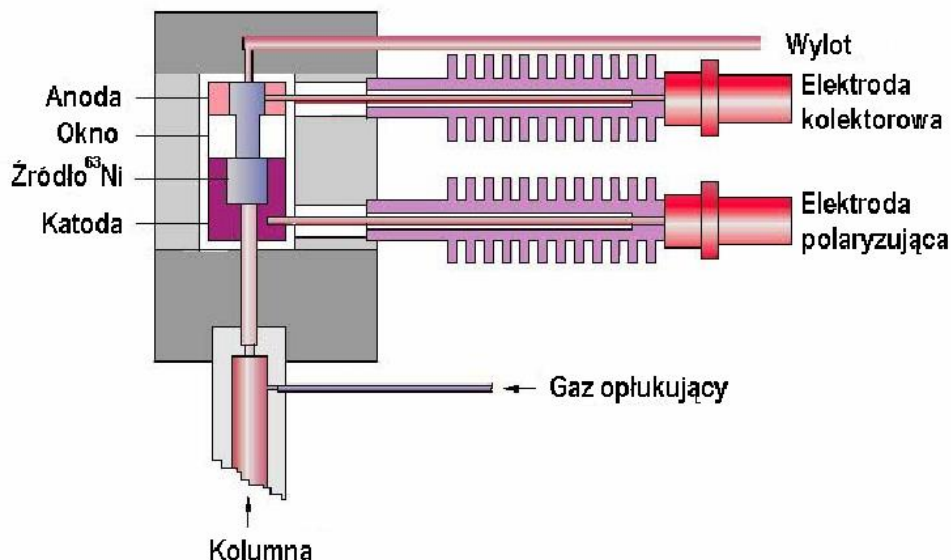
- długość i średnica kolumny
- rodzaj i grubość fazy aktywnej kolumny
- program temperaturowy
- szybkość przepływu i rodzaj gazu nośnego w kolumnie

Oczywiście każdy z tych parametrów ma istotne ograniczenia, nie można np. prowadzić analiz w warunkach termicznej destrukcji analizowanych substancji lub niszczących samą kolumnę.

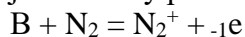
Substancje opuszczające kolumnę trafiają do detektora. Detektor ECD specyficznie reaguje na obecność związków zawierających pierwiastki elektrono-akceptorowe. Węglowodory alifatyczne praktycznie „nie są widziane” przez taki detektor. Stąd szerokie zastosowanie detektorów ECD do oznaczania związków chlorowcoorganicznych (PCB, pestycydy).

2.1. Detektor wychwytu elektronów ECD.

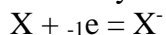
Jest detektorem selektywnym. Sygnały w detektorze ECD pojawiają się w wyniku gwałtownego spadku natężenia prądu płynącego w komorze jonizacyjnej po dostaniu się do niej substancji o dużym powinowactwie elektronowym. Poniżej przedstawiono schemat takiego detektora.



W komorze detektora znajduje się źródło promieniowania β (folia z ^{63}Ni), katoda oraz elektroda zbiorcza – anoda. Gaz nośny, którym jest bardzo czysty azot lub mieszanina argonu z metanem jest jonizowany przez cząstki β , emitowane ze źródła, zgodnie z równaniem:



Jony dodatnie i elektrony „zbierane są przez elektrody. W ten sposób tworzy się prąd tła. Wprowadzone do komory związki o dużym powinowactwie elektronowym, wychwytyują wolne elektrony według równania:



Jony X^- , rekombinują z dodatnimi jonami gazu nośnego N_2^+ , powodując spadek prądu tła. Detektor charakteryzuje się dużą czułością w stosunku do związków halogenoorganicznych. (zwierające fluor, chlor, brom lub jod). Poziom detekcji jest rzędu 10^{-14} g Cl na cm^3 gazu nośnego.

3. Oznaczenia 1,2-dibromoetanu metodą GC-ECD.

Warunki pracy chromatografu:

- temperatura dozownika: 240°C
- temperatura detektora: 300°C
- przepływ gazu nośnego (azotu) przez kolumnę: 1 ml/min (100 kPa)
- przepływ dodatkowego gazu nośnego (azotu) przez detektor: 40 ml/min
- program temperaturowy pieca: $60^\circ\text{C}(1\text{min})$, $20^\circ\text{C}/\text{min} \rightarrow 120^\circ(3\text{min})$,
- kolumna: HP-5, długość – 30m, średnica 0,25mm, film 0,25 μm
- objętość nastrzyku: 1 μl (split 1:20)

Czas analizy wynosi około 10 min.

Wykonanie oznaczenia:

Zadanie polega na określeniu ilości 1,2-dibromoetanu (DBE) obecnego w próbce powietrza. Do tego celu wykorzystany zostanie chromatograf gazowy z detektorem wychwytu elektronów (ECD) firmy Shimadzu. Powietrze zawierające DBE uzyskane będzie przez wprowadzenie określonej ilości odczynnika do szklanej butelki o pojemności 350 ml z gumowym korkiem. Stężenie DBE w próbce powietrza zostanie wyznaczone na podstawie krzywej wzorcowej uzyskanej przez analizę odpowiednich rozcieńczeń 1,2-dibromoetanu w heksanie. Roztwory przygotowujemy w szklanych

fiolkach z zakrętką. Roztwór wyjściowy zawiera 10 µg 1,2-dibromoetanu w 1 ml heksanu. Kolejne rozcieńczenia to 0.1 ng/µl, 0.05 ng/µl, 0.01 ng/µl. Przygotowujemy je poprzez odpowiednie rozcieńczanie heksanem roztworów wyjściowych. Rozcieńczenia przygotowujemy w buteleczkach 2 ml z zakrętką.

Pomiary rozpoczynamy od analizy chromatograficznej rozpuszczalnika czyli heksanu. Analizy roztworów wzorcowych do krzywej wykonujemy w kolejności od najniższego do najwyższego stężenia aplikując za każdym razem do aparatu GC-ECD po 1 µl roztworu (nie przepłukując w międzyczasie strzykawki).

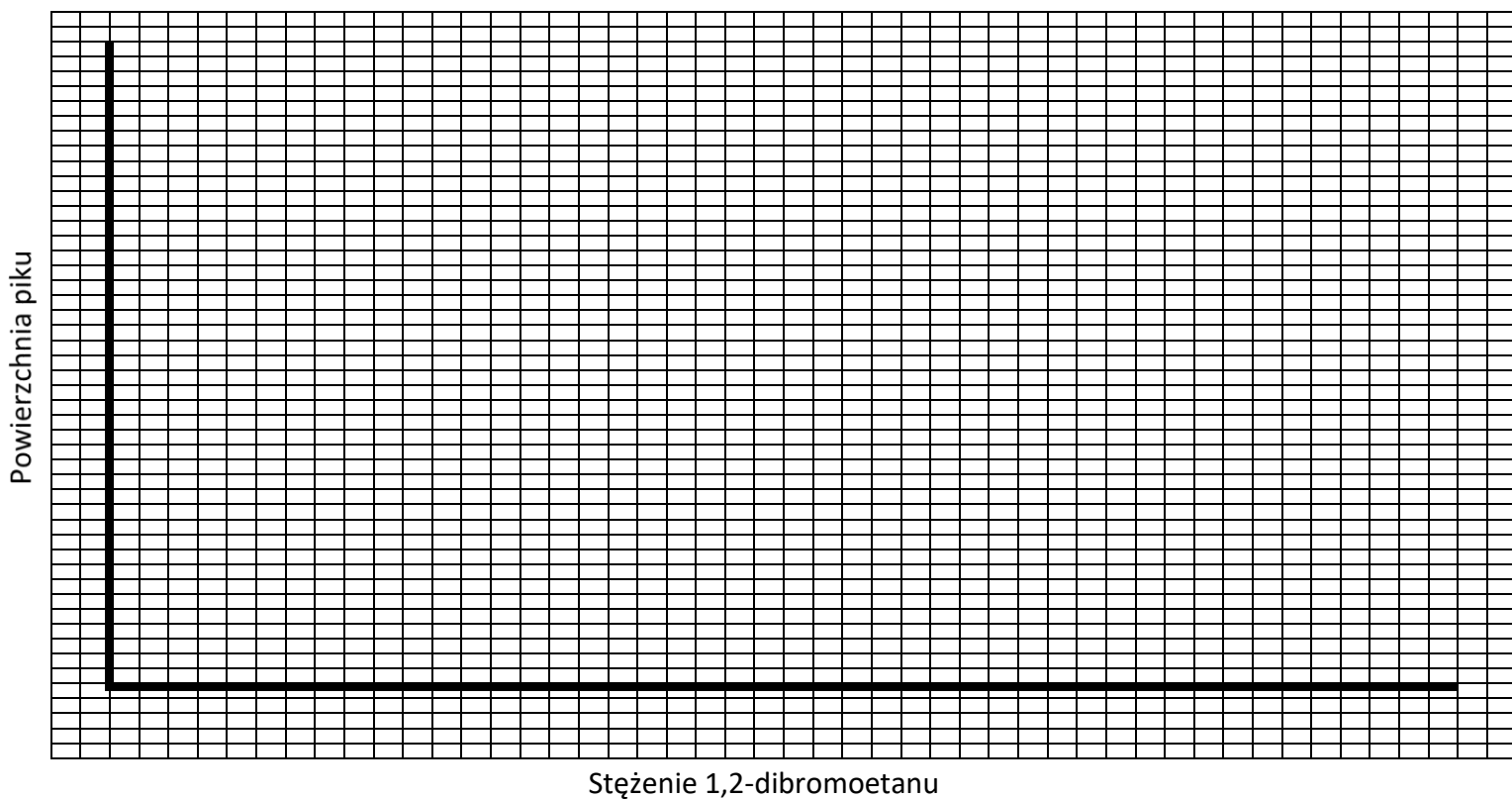
Po wykonaniu wszystkich analiz strzykawkę należy 10 krotnie przepłukać heksanem. Oznaczenie zawartości 1,2-dibromoetanu w próbce powietrza zostanie przeprowadzone przez aplikację do aparatu 100 µl powietrza pobranego przez gumowy korek z butelki za pomocą gazoszczelnej mikrostrzykawki. Pliki kolejnych analiz oznaczamy w sposób następujący: 1Hex – dla heksanu; 1DB100, 1DB050, 1DB010 – dla kolejnych rozcieńczeń 1,2-BDE; 1DBPOW – dla próbki powietrza (pisanie rozszerzenia pliku nie jest konieczne). Pliki zapisujemy w katalogu: C:\CHROMA\ANALIZY\KURS6
Ilość 1,2-dibromoetanu w próbce wyznaczymy na podstawie powierzchni piku i porównaniu jej do krzywej wzorcowej wykreślonej na podstawie powierzchni pików roztworów wzorcowych.

Analizy GC-ECD i odczytanie powierzchni pików prowadzimy w oparciu o osobną instrukcję.

Wyniki:

Stężenie DBE	0.1 ng/ μ l	0.05 ng/ μ l	0.01 ng/ μ l	
Powierzchnia piku [μ V/s]				
Powierzchnia piku próbki powietrza		Stężenie DBE w powietrzu	ng/100 μ l	μ g/350ml

Krzywa wzorcowa i wynik pomiaru zawartości DBE w powietrzu



Imiona i nazwiska autorów:

- 1.
- 2.