

ĆWICZENIE II. Oznaczenie ilości lotnych związków organicznych w powietrzu metodą GC-FID

Wprowadzenie

Lotne związki organiczne w środowisku

Do grupy lotnych związków organicznych (z ang. VOCs – *Volatile Organic Compounds*) należą związki organiczne o temperaturach wrzenia mniejszych lub równych 250 °C przy ciśnieniu 101,3 kPa (definicja wg Dyrektywy 2004/42/WE). Grupę tę tworzą różnorodne związki, takie jak: węglowodory alifatyczne i aromatyczne, terpeny, aldehydy, ketony, kwasy, estry, alkohole, halogenowęglowodory.

Związki te dostają się do powietrza, wód i gleb z procesów naturalnych (np. erupcja wulkanów, przemiana materii) oraz antropogenicznych (spalanie paliw, rafinerie, transport, uboczne produkty wielu procesów przemysłowych, używanie rozpuszczalników) i stanowią źródło zanieczyszczeń środowiska.

Bezpośrednie niekorzystne oddziaływanie VOCs wynika z ich właściwości toksycznych, mutagennych i/lub kancerogennych. Oddziaływanie pośrednie związane jest z powstawaniem produktów przemian tych związków, np. w powietrzu związki te biorą udział w fotolitycznym cyklu reakcji razem z tlenkami azotu, prowadząc do powstania smogu fotochemicznego.

Lotne związki organiczne charakteryzują się dużą mobilnością w środowisku, przy czym najszybsze przemieszczanie się zachodzi w powietrzu, wskutek wertykalnego i horyzontalnego mieszania się mas powietrza. Związki wyemitowane do jednego elementu środowiska mogą również przenikać do innego. Jako substancje lotne, odparowują do atmosfery z powierzchni gruntu, wód, szos, terenów stacji benzynowych czy rur wydechowych, kominów przemysłowych lub otwartych zbiorników. Jeżeli nie ulegną żadnym reakcjom chemicznym w atmosferze, to kondensują wraz z wodą, a następnie wracają na powierzchnię Ziemi wraz z wodą deszczową.

Istotną rolę w ocenie skażeń środowiska odgrywają węglowodory monoaromatyczne: benzen, toluen, etylobenzen i ksyleny (nazywane w skrócie BTEX), ze względu na to, że są jednymi z najbardziej toksycznych oraz wykazują relatywnie wysoką rozpuszczalność w wodzie w porównaniu do innych związków ropopochodnych.

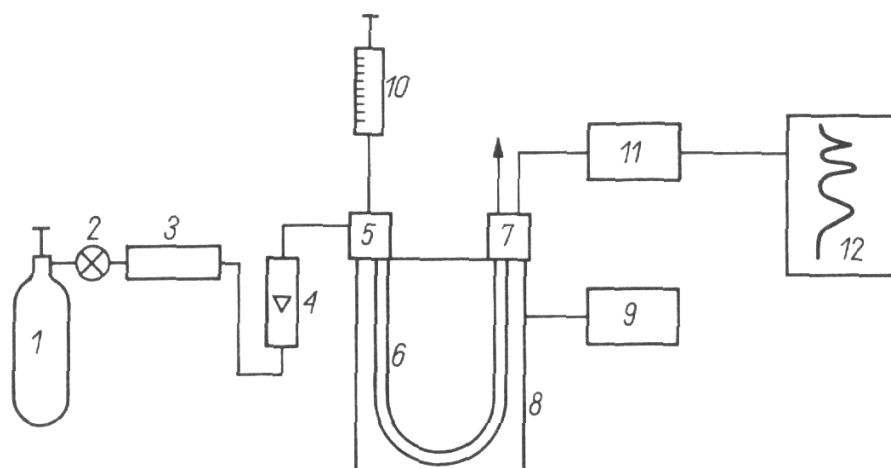
Chromatografia gazowa

Chromatografia jest metodą rozdzielania składników jednorodnych mieszanin w wyniku różnego ich podziału między fazę ruchomą i nieruchomą układu chromatograficznego. Fazą ruchomą może być gaz lub ciecz, a fazą nieruchomą ciało stałe lub ciecz. Jeśli fazą ruchomą jest gaz, to chromatografia nosi nazwę gazowej, gdy zaś fazą ruchomą jest ciecz to chromatografia taka nazywana jest cieczową.

Analizę techniką **chromatografii gazowej (GC, Gas Chromatography)** wykonuje się zazwyczaj w stosunkowo wysokich temperaturach, umożliwiających odparowywanie nawet substancji stałych. W chromatografii gazowej, gaz nośny ze zbiornika pod ciśnieniem płynie do specjalnie skonstruowanego, umożliwiającego wstrzykiwanie próbek, dozownika a następnie, już razem z próbką przez kolumnę do detektora. Temperatura dozownika, kolumny i detektora jest regulowana i może wynosić nawet 350 °C. Próbkę w postaci gazu, cieczy lub roztworu wprowadza się do dozownika mikrostrzykawką lub specjalnym zaworem dozującym (głównie gazy). Próbka w dozowniku zostaje przeprowadzona w stan gazowy (odparowana w wysokiej temperaturze) i ze strumieniem gazu nośnego przeniesiona do kapilarnej kolumny o długości 20-30 metrów, gdzie następuje rozdzielanie jej składników. Rozdzielone składniki trafiają kolejno do detektora, generując w nim odpowiedni sygnał, który po wzmocnieniu rejestrowany jest w postaci chromatogramu (patrz Rysunek 2.1).

Chromatografię gazową substancji gazowych i lotnych rozpuszczalników przeprowadza się w niezmienionej postaci, jednakże w celu przeprowadzenia analizy organicznych substancji stałych i

niełatwych rozpuszczalników anality należy przeprowadzić w odpowiednie pochodne (derywatyzować). Lotność substancji zwiększa się poprzez zablokowanie ich polarnych grup funkcyjnych (-COOH, -OH, NH₂). Derywatyzację przeprowadza się także w celu zwiększenia trwałości termicznej analizowanych substancji. W przypadku analizy kwasów karboksylowych, alkoholi, fenoli i amin najczęściej stosowaną metodą derywatyzacji jest metylacja i/lub silylacja. Detektorami najczęściej stosowanymi do oznaczeń VOCs są detektor płomieniowo-jonizacyjny i detektor masowy (spektrometr mas).



Rys. 2.1. Schemat chromatografu gazowego

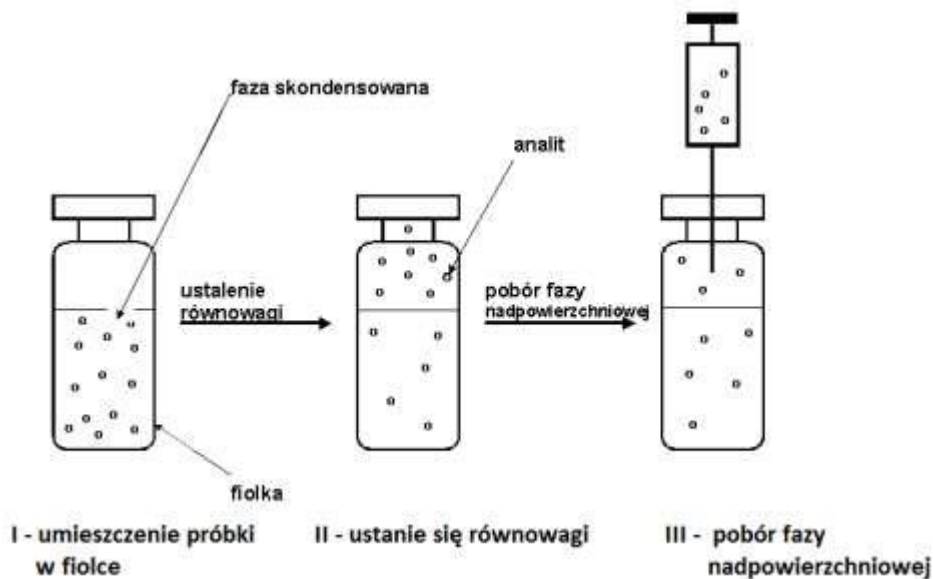
1 — zbiornik lub wytwornica gazu nośnego, 2 — regulator przepływu gazu nośnego, 3 — odtleniacz i osuszacz (oczyszczalnik) gazu nośnego, 4 — przepływomierz gazu nośnego, 5 — dozownik, 6 — kolumna, 7 — detektor, 8 — termostat kolumny, 9 — regulator temperatury dozownika, kolumny i detektora, 10 — urządzenie dozujące, 11 — wzmacniacz sygnału detektora, 12 — integrator lub komputer z drukarką albo rejestrator

Jakościowa i ilościowa analiza analitów

Chromatogram, który jest odpowiedzią detektora w funkcji czasu, dostarcza informacji jakościowych i ilościowych o badanej próbce. Podstawowym parametrem wykorzystywanym do identyfikacji związków jest czas retencji (t_R), czyli czas mierzony od momentu rozpoczęcia analizy chromatograficznej (wstrzyknięcia próbki) do pojawiania się maksymalnej ilości analitu w detektorze. Czas retencji substancji wyznacza się w konkretnych warunkach pomiarowych mających wpływ na jego wartość. Te warunki to w szczególności: rodzaj kolumny (jej wymiary i wypełnienie) oraz parametry analizy chromatograficznej (prędkość przepływu gazu nośnego, temperatura kolumny). Porównywanie czasu retencji oznaczanej substancji z wzorcem w celu identyfikacji jest uzasadnione tylko przy zachowaniu identycznych warunków analizy. Dlatego też oprócz t_R stosuje się wielkości retencyjne obliczane względem substancji wzorcowych. Bardzo użytecznym parametrem retencji jest też indeks retencji wprowadzony przez Kovatča. Czas retencji analitu nie zależy od obecności w próbce innych substancji i w pewnych zakresie od ilości analitu (zbyt wysokie stężenia analitów powodują zaburzenia rozdziału).

Próbki gazowe najczęściej analizuje się przez bezpośrednie wstrzyknięcie ich do chromatografu za pomocą specjalnej gazoszczelnej strzykawki (10-100 μ l). Jednakże lotne związki organiczne w próbkach środowiskowych występują często w stężeniach wymagających wzbogacania przed analizą chromatograficzną. W przypadku próbek powietrza najczęściej stosuje się wzbogacanie kriogeniczne i adsorpcję na stałym sorbencie. W przypadku próbek wody i gleby równocześnie ze wzbogacaniem może następować przeniesienie analitów z pierwotnej matrycy do fazy umożliwiającej bezpośrednie

wprowadzenie do chromatografu gazowego, czyli innej fazy ciekłej albo gazowej. Stosowane do tego celu są m.in.: techniki ekstrakcyjne do fazy ciekłej (SPE), mikroekstakcja do fazy stałej (z ang. *SPME*), analiza fazy nadpowierzchniowej (z ang. *Headspace*).



Rys. 2.2. Etapy metody *headspace*.

Aby ilościowo oznaczyć analit w fazie gazowej lub skondensowanej w przypadku analizy *headspace*, należy najpierw przeprowadzić odpowiednią kalibrację (wykonać krzywą wzorcową). W przypadku próbek gazowych należy przygotować serię rozcieńczeń analitu o znanym stężeniu i przeprowadzić pomiar powierzchni pików w zależności od stężenia analitu. W przypadku *headspace*, przygotowujemy serię roztworów, która pozwoli nam określić zależność pomiędzy sygnałem detektora pochodzącym od analitu w fazie gazowej od zawartości analitu w fazie skondensowanej.

Ćwiczenie

1. Oznaczanie ilościowe etylenu metodą chromatografii gazowej GC-FID

Oznaczaną lotną substancją organiczną jest etylen. Jest on półproduktem w produkcji tworzyw sztucznych a także bardzo ważnym hormonem roślinnym. Ilościowe oznaczenie etylenu wymaga wykonania najpierw krzywej wzorcowej a następnie na jej podstawie oznaczenie stężenia etylenu w gazowych próbkach przygotowanych przez prowadzącego. Analizy wykonujemy wg. osobnej instrukcji, wstrzykując, za pomocą gazoszczelnej mikrostrzykawki, odpowiednią objętość gazowej próbki do chromatografu gazowego z kolumną RTX-5, 30m/0,53 mm. Wyniki analizy rejestrowane są za pomocą komputera. Metoda analityczna: Etylen_GC.mth znajduje się w katalogu C:\TC4\GC\Metody\, chromatogramy zapisujemy w katalogu: C:\TC4\GC\Dane\Kurs6\Zesp1\, ... \Zesp2\, ... \Zesp3\. Nr zespołu jest numerem zadania, które wykonywał zespół na ćwiczeniach jako pierwsze. Nazwy plików chromatogramów: Krz1, Krz2 ...; nazwy chromatogramów prób środowiskowych: Pro1, Pro2.

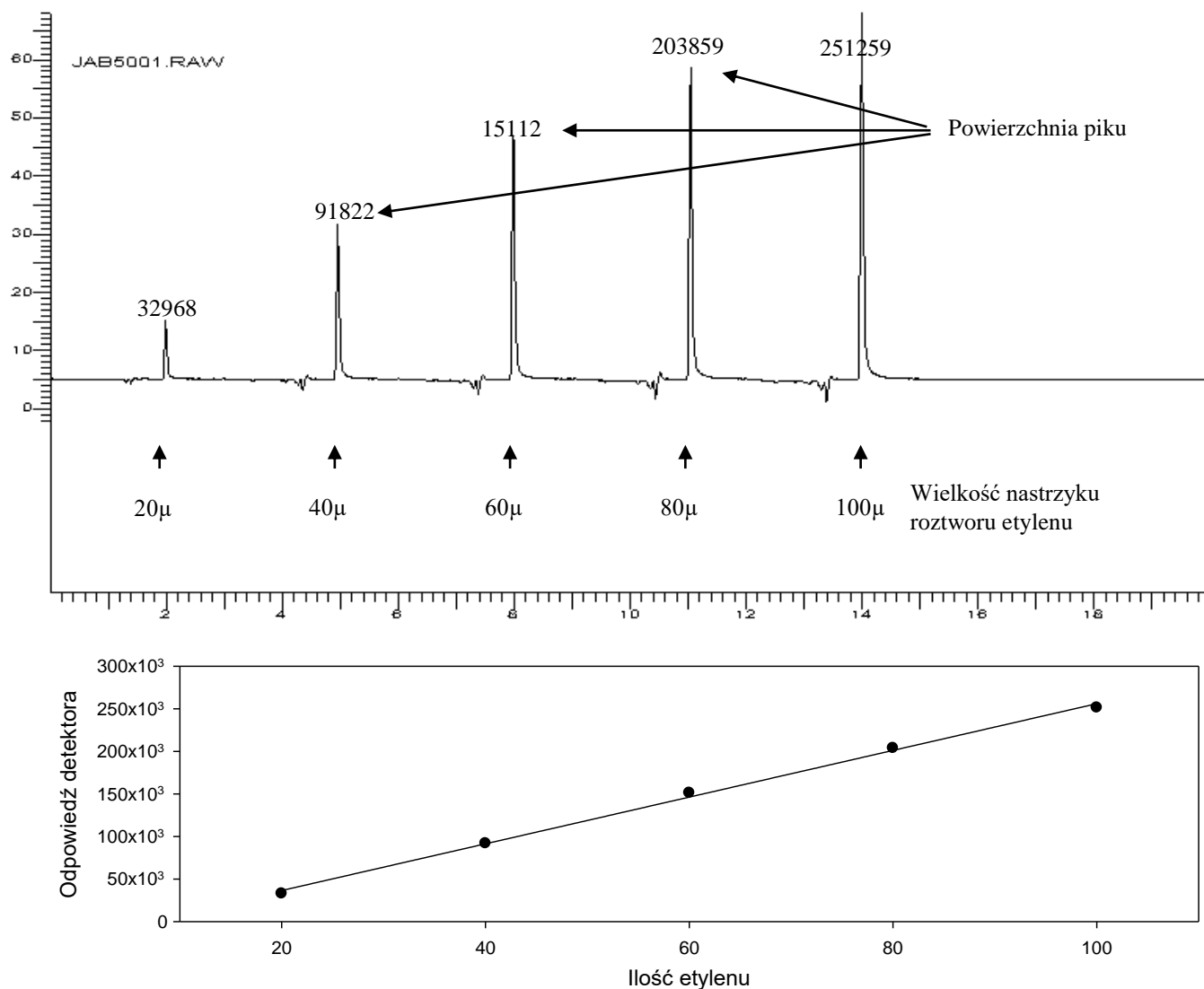
Wykonanie krzywej wzorcowej

Z butelki zawierającej czysty etylen pobieramy przez septum za pomocą strzykawki 0,35 ml gazu i wprowadzamy go do innej, zamkniętej septum butelki, zaopatrzonej w mieszadło (próbówka Eppendorfa) butelki o pojemności 350 ml (oznaczyć ją jako A). Zawartość wytrząsamy, po czym, za pomocą **innej** strzykawki, pobieramy 0,35 ml gazu i przenosimy do kolejnej butelki (oznaczyć ją jako

B). Zawartość butelki wytrząsamy a następnie za pomocą gazoszczelnej mikrostrzykawki pobieramy z niej kolejno 100, 80, 60, 40 i 20 μl gazu i wstrzykujemy do chromatografu. Jeśli po wstrzyknięciu 100 μl gazu detektor nie wykryje obecności etylenu, to wykonujemy analizę pobierając 20 μl gazu z butelki A. Jeśli odpowiedź detektora będzie wynosiła ok. 10 μV , to należy wykonać pomiary wartości sygnału dla 40, 60, 80 i 100 μl próbki.

Każdy pomiar do kolejnych punktów krzywej wzorcowej powtarzamy trzykrotnie. Pomiary możemy wykonywać osobno dla każdej próbki lub wstrzykiwać kolejne próbki co 3 min podczas 30 minutowej rejestracji chromatogramu (patrz Rys. 2.3).

Wyznaczanie krzywej wzorcowej oznaczania etylenu



Rys. 2.3. Chromatogram kolejnych nastrzyków „roztworu” etylenu (u góry) oraz krzywa wzorcowa zależności powierzchni piku od stężenia (ilości) etylenu (u dołu).

Wykonanie analizy „próbki środowiskowej”

W identyczny sposób do opisanego powyżej wykonujemy nastrzyki po 100 μl dostarczonych przez prowadzącego próbek środowiskowych powietrza i rejestrujemy chromatogramy.

Wyniki

Na podstawie uzyskanej krzywej wzorcowej i chromatogramów prób środowiskowych wyznacz stężenie etylenu w atmosferze w butelkach 1 i 2 wyrażone w $\mu\text{l}/\text{dm}^3$ powietrza.