



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIWERSYTET GDAŃSKI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Publikacja współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

Monitoring i analityka zanieczyszczeń w środowisku



Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego

Elżbieta Synak

Beata Szafranek

Zbigniew Kaczyński

Piotr Stepnowski



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Publikacja współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

© Copyright by:

Elżbieta Synak, Beata Szafranek, Zbigniew Kaczyński, Piotr Stepnowski

Skład komputerowy: Zbigniew Kaczyński

stronę tytułową zaprojektowała Anna Białk-Bielińska

Recenzent: Prof. dr hab. inż. Waldemar Wardencki

ISBN 978-83-7326-712-1

All rights reserved

Uniwersytet Gdański
Wydział Chemii
80-952 Gdańsk, ul. Sobieskiego 18/19

Monitoring i analityka zanieczyszczeń w środowisku

Elżbieta Synak

Beata Szafranek

Zbigniew Kaczyński

Piotr Stepnowski

Spis treści

I. WPROWADZENIE.....	10
II. MONITORING ŚRODOWISKA NATURALNEGO.....	12
1. Wstęp.....	12
2. Państwowy Monitoring Środowiska	13
3. Monitoring powietrza atmosferycznego.....	15
3.1. Metody monitorowania zagrożeń powietrza atmosferycznego	19
3.1.1. Pomiary „in situ”	19
3.1.2. Systemy zdalnego monitorowania	21
3.1.3. Monitorowanie atmosfery poprzez obserwację skutków zanieczyszczeń	24
3.1.4. Monitoring atmosfery w województwie pomorskim	27
4. Monitoring wód	28
4.1. Metody monitoringu wód.....	32
4.1.1. Monitoring wód „in situ”	33
4.1.2. Teledetekcja w monitoringu wód.....	34
4.1.3. Biomonitoring wód.....	35
5. Monitoring jakości gleby i ziemi	36
5.1. Metody monitorowania gleb i ziemi.....	44
5.1.1. Biomonitoring gleb i ziemi.....	44
5.1.2. Zdalny monitoring gleb i ziemi	45
6. Podstawy prawne regulujące systemy monitorowania zagrożeń środowiska.....	47
7. Literatura	50
III. ZANIECZYSZCZENIA ŚRODOWISKA NATURALNEGO, ŹRÓDŁA I CHARAKTERYSTYKA	52
1. Powietrze atmosferyczne	52
1.1. Źródła zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego	54
1.2. Lotne zanieczyszczenia organiczne, LZO.....	56
1.3. Odory	58
1.4. Pyły	60
2. Zanieczyszczenia powietrza w pomieszczeniach zamkniętych	62
3. Zanieczyszczenia powietrza na stanowiskach pracy.....	63
4. Wody naturalne i ścieki	66
4. 1. Wody opadowe.....	66

4. 2. Wody powierzchniowe	67
4. 3. Wody podziemne	71
4. 4. Ścieki	71
4. 5. Charakterystyka zanieczyszczeń organicznych wód	72
4. 6. Charakterystyka zanieczyszczeń nieorganicznych wód	76
5. Gleby i ziemia	82
5.1. Właściwości gleby i ziemi	84
5.2. Źródła zanieczyszczenia gleb i ziemi	85
5.3. Charakterystyka niektórych substancji zanieczyszczających gleby i ziemię	87
6. Literatura	91
IV. POBIERANIE I WSTĘPNE PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO ANALIZY	93
1. Pobieranie próbek do analizy	93
1.1. Zasady pobierania próbek	93
1.2. Sposoby pobierania próbek gazowych	96
1.3. Sposoby pobierania próbek wodnych	101
1.4. Sposoby pobierania próbek stałych	105
2. Utrwalanie i magazynowanie próbek	107
3. Wprowadzenie do analityki zanieczyszczeń	113
3.1. Proces analityczny	113
3.2. Metody procesu analitycznego	114
3.3. Oznaczenia ilościowe metodami względnymi	116
3.3.1. Metoda krzywej kalibracyjnej	117
3.3.2. Metoda wzorca wewnętrznego	119
3.3.3. Metoda dodatku wzorca	121
3.4. Przedstawianie wyników oznaczeń	125
4. Podział metod wyodrębniania i oczyszczania analitów	127
5. Metody fizyczne zagęszczania związków chemicznych	128
6. Metody chemiczne zagęszczania analitów	130
6.1. Tworzenie pochodnych analitów dla ich wydzielenia	130
6.2. Derywatywacja – tworzenie pochodnych dla analizy	130
6.3. Mineralizacja	133
6.4. Analiza specjacyjna	135
7. Fizykochemiczne sposoby przygotowania próbek	137
7.1. Absorpcja	137

7.2. Adsorpcja	139
7.2.1. Ekstrakcja przez membrany porowate	142
7.3. Ekstrakcja	144
7.3.1. Ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz	145
7.3.1.1. Ekstrakcja cieczami jonowymi	148
7.3.2. Techniki ekstrakcji w układzie ciecz-ciecz	152
7.3.3. Techniki mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz	153
7.3.3.1. Wstrzykowa analiza przepływowa	153
7.3.3.2. Mikroekstrakcja do kropli	154
7.3.3.3. Mikroekstrakcja poprzez membranę do fazy ciekłej	156
7.3.4. Ekstrakcja w układzie ciało stałe-ciecz	158
7.3.4.1. Ekstrakcja odczynnikiem jonowo-asocjacyjnym	158
7.3.5. Techniki ekstrakcji w układzie ciało stałe-ciecz	160
7.3.5.1. Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w aparacie Soxhleta	160
7.3.5.2. Ekstrakcja rozpuszczalnikiem wspomaganą ultradźwiękami	162
7.3.5.3. Ekstrakcja rozpuszczalnikiem ze wspomaganie promieniowaniem mikrofalowym	164
7.3.5.4. Przyspieszona ekstrakcja rozpuszczalnikiem	166
7.3.5.5. Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym	168
7.3.6. Ekstrakcja do fazy gazowej	171
7.3.7. Techniki ekstrakcji do fazy gazowej	173
7.3.7.1. Statyczna metoda ekstrakcji do fazy nadpowierzchniowej	173
7.3.7.2. Dynamiczna metoda ekstrakcji do fazy nadpowierzchniowej	174
7.3.8. Ekstrakcja do fazy stałej	177
7.3.8.1. Mikroekstrakcja do fazy stałej	182
7.3.8.2. Mikroekstrakcja do fazy stałej za pomocą ruchomego elementu sorpcyjnego	185
7.3.8.3. Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu w strzykawce	187
7.3.8.4. Ekstrakcja przez wykluczanie na sorbentach immunologicznych	189
7.3.8.5. Ekstrakcja za pomocą polimerów z nadrukiem molekularnym	190
7.3.8.6. Ekstrakcja z ograniczonym dostępem do fazy stacjonarnej	191
8. Literatura	193
V. CHROMATOGRAFICZNE METODY ANALITYCZNE	195
1. Wprowadzenie do metod chromatograficznych	195
1.1. Wstęp	195
1.2. Podział metod chromatograficznych	196
1.3. Podstawowe pojęcia stosowane w chromatografii	197
1.4. Analiza jakościowa w chromatografii	200

1.5. Analiza ilościowa w chromatografii	201
2. Chromatografia cieczowa	203
2.1. Chromatografia adsorpcyjna	204
2.2.1. Chromatografia w normalnym układzie faz	204
2.2. Chromatografia podziałowa	206
2.2.1. Chromatografia w odwróconym układzie faz.....	207
2.3. Techniki chromatografii cieczowej	208
2.3.1. Niskociśnieniowa chromatografia cieczowa.....	208
2.3.2. Wysokosprawna chromatografia cieczowa.....	209
2.3.3. Chromatografia cienkowarstwowa	211
3. Chromatografia gazowa	213
3.1. Chromatograf gazowy.....	214
3.2. Dobór warunków analizy chromatografii gazowej	217
3.3. Połączenie chromatografii gazowej ze spektrometrią mas	218
4. Literatura	218
VI. SPEKTROSKOPOWE METODY ANALITYCZNE.....	220
1. Wstęp.....	220
1.1. Podział analitycznych metod spektroskopowych	221
2. Spektroskopia molekularna (cząsteczkowa)	222
2.1. Wstęp.....	222
2.2. Spektrofotometria absorpcyjna.....	223
2.2.1. Prawa absorpcji	224
2.2.2. Spektrofotometria UV-Vis	225
2.2.2.1. Aparatura	227
2.2.2.2. Wykorzystanie spektrofotometrii UV-Vis	229
2.2.3. Spektrofotometria IR.....	229
2.2.3.1. Aparatura	231
2.2.3.2. Wykorzystanie spektrofotometrii IR	232
3. Spektrometria atomowa	233
3.1 Wstęp.....	233
3.2. Absorpcyjna spektrometria atomowa	234
3.2.1. Aparatura	235
3.2.2. Analiza ilościowa metodą AAS.....	238
3.2.3. Zastosowanie AAS	238
3.3. Emisyjna spektrometria atomowa	239
3.3.1. Fotometria płomieniowa.....	239

3.3.2. Emisyjna spektrometria atomowa ze wzbudzeniem za pomocą indukcyjnie sprzężonej plazmy, ICP–AES.....	240
4. Spektrometria mas.....	242
4.1. Wstęp.....	242
4.2. Sposoby jonizacji i aparatura	242
4.2.1. Jonizacja strumieniem elektronów, EI.....	242
4.2.2. Jonizacja na drodze elektrorozpraszania, ESI	246
4.2.3. Jonizacja chemiczna pod ciśnieniem atmosferycznym, APCI	247
4.2.4. Zastosowanie spektrometrii mas	248
5. Literatura	249
VII. ELEKTROCHEMICZNE METODY ANALITYCZNE	250
1. Wstęp.....	250
2. Potencjometria.....	250
2.1. Wprowadzenie.....	250
2.2. Elektrody stosowane w potencjometrii.....	254
2.3. Analityczne zastosowanie potencjometrii	259
2.3.1. Pomiar pH.....	259
2.3.2. Oznaczanie stężenia jonów w roztworze metodą potencjometrii bezpośredniej.....	260
2.3.3. Miareczkowanie potencjometryczne metodą klasyczną.....	262
3. Konduktometria	263
3.1. Wprowadzenie.....	263
3.2. Przewodnictwo elektrolitów.....	264
3.3. Zastosowanie konduktometrii klasycznej.....	268
3.3.1. Konduktometria bezpośrednia	268
3.3.2. Miareczkowanie konduktometryczne	268
4. Literatura	270
VIII. METODY MIARECZKOWE.....	271
1. Podział metod miareczkowych	271
2. Podstawowe zasady analizy miareczkowej.....	272
2.1. Roztwory mianowane	272
2.2. Wykonanie miareczkowania.....	273
2.3. Wykonanie obliczeń.....	274
2.3.1. Wyznaczanie współmierności kolby z pipetą	274
3. Przykłady analiz miareczkowych.....	275

3.1. Oznaczanie chlorków metodą potencjometryczną	275
3.2. Oznaczanie chlorków metodą Mohra	276
3.3. Oznaczanie tlenu rozpuszczonego w wodzie metodą Winklera	276
3.4. Kompleksonometryczne oznaczanie niklu	277
3.5. Oznaczenie zawartości wodoru i glinu wymiennego w próbkach gleby.....	279
4. Literatura	280

I. Wprowadzenie

Jednym z filarów współczesnych nauk o środowisku jest wiedza na temat wielkości i zasięgu skażenia środowiska przez zanieczyszczenia chemiczne. Bez wiarygodnego określenia tych wielkości praktycznie nie jest możliwe prowadzenie żadnych skutecznych działań zmierzających do poprawy stanu środowiska naturalnego. Analityka zanieczyszczeń w środowisku to dziś obszerny dział chemii analitycznej wykorzystujący jednak także elementy nauk biologicznych oraz nauk o ziemi. Ten interdyscyplinarny zakres wymaga nie tylko zrozumienia samego procesu analitycznego, ale także poznania natury komponentu środowiska będącego matrycą oznaczanego zanieczyszczenia chemicznego.

Współcześnie, metody analityki środowiskowej możemy podzielić na dwie zasadnicze grupy. Pierwsza obejmuje procedury analityczne opracowane dla rutynowego oznaczania (monitorowania) typowych zanieczyszczeń wody, ścieków, gleby i atmosfery w celu zakwalifikowania poszczególnych elementów środowiska do określonych klas czy kategorii czystości, określonych właściwymi przepisami prawnymi. Są to zarówno proste metody kolorymetryczne czy wręcz organoleptyczne, dające zaledwie szacunkowy wynik poziomu mierzonego parametru w danym komponentcie środowiskowym, jak i skomplikowane metody instrumentalne, wymagające użycia aparatury pomiarowej, niejednokrotnie wyrafinowanej i bardzo drogiej.

Druga grupa obejmuje te metody analityczne, które zostały opracowane w związku z potrzebą pomiaru wybranych zanieczyszczeń środowiska, niewyszczególnionych w przepisach prawnych, mających jednak istotne znaczenie dla poznania stanu i jakości środowiska. W takich przypadkach mamy na ogół do czynienia ze złożonymi procedurami analitycznymi, niejednokrotnie zmierzającymi do pomiaru substancji na poziomie śladowym czy ultraśladowym.

Obie grupy metod, które przecież niejednokrotnie przenikają się w zakresie używanej aparatury czy stosowanych procedur przygotowania próbek, należy traktować nierozdzielnie, jako szeroko rozumianą **analitykę środowiskową**, wykorzystywaną między innymi (ale nie wyłącznie) w monitoringu środowiska.

Kształcenie umiejętności w zakresie analityki środowiskowej na Uniwersytecie Gdańskim rozpoczęło się 20 lat temu, wraz z powołaniem, wówczas jednego z pierwszych w Polsce, kierunku ochrona środowiska. Od samego początku, proces dydaktyczny w obrębie przedmiotów związanych z analityką środowiskową oparty był o pracę z nowoczesną aparaturą pomiarową, umożliwiając studentom nabycie konkretnych umiejętności praktycznych w tym zakresie, co oczywiście również przekładało się na zwiększenie ich konkurencyjności na rynku pracy. Nabyte doświadczenia praktyczne wymagają jednak dobrego przygotowania teoretycznego do wykonywanych badań tak, aby świadomy analityk środowiskowy rozumiał istotę procesu, w którego rezultacie uzyskuje wynik analityczny.

Niniejszy skrypt jest próbą podsumowania tych zagadnień teoretycznych, które według autorów są niezbędne przyszłemu analitykowi środowiskowemu do samodzielnego projektowania i realizowania zadań analitycznych, zarówno dla potrzeb monitoringu środowiska jak i innych pomiarów zanieczyszczeń chemicznych.

W pierwszej części omówione zostały założenia Państwowego Monitoringu Środowiska, a także stosowane metody monitorowania atmosfery, wód i gleb. W dalszej części przedstawiono najważniejsze informacje dotyczące samych zanieczyszczeń, ich krótką charakterystykę oraz źródła

pochodzenia. Obszerną część skryptu poświęcono metodom poboru i przygotowania próbek do analizy, które w całym cyklu analitycznym stanowią niejednokrotnie „wąskie gardło” procesu i mają bezpośredni i decydujący wpływ na końcowy wynik pomiaru. W dalszej kolejności scharakteryzowano najważniejsze metody pomiarowe, które stosowane są do oznaczeń końcowych zanieczyszczeń środowiskowych. W szczególności omówiono metody chromatograficzne, spektroskopowe, elektroanalityczne oraz miareczkowe. Całość skryptu jest bogato ilustrowana rysunkami i schematami używanej aparatury, a najważniejsze informacje ujęte są w czytelne ramki. Mamy nadzieję, że skrypt ten będzie przydatnym materiałem dla studentów i absolwentów ochrony środowiska naszego uniwersytetu oraz innych polskich uczelni.

Gdańsk, 6 grudnia 2010 roku

Autorzy

II. Monitoring środowiska naturalnego

1. Wstęp

Rozwój sfery przemysłowej i związany z tym popyt na coraz wyższy standard życia pociągnął za sobą degradację i dezintegrację środowiska naturalnego w skali globalnej. Ocenia się, że w ostatnich 10 latach, do środowiska naturalnego przedostało się tyle substancji zanieczyszczających, ile w poprzednich 70 latach a tempo zanieczyszczania dalej rośnie. Zanieczyszczeniu ulega gleba (przede wszystkim toksycznymi metalami ciężkimi, promieniotwórczymi nuklidami i pestycydami), woda oraz powietrze. Zanieczyszczenie powietrza atmosferycznego, poza bezpośrednimi skutkami, prowadzi do zmniejszenia warstwy ozonowej i ocieplenia klimatu. Skutki wysokiego stopnia ingerencji człowieka w środowisko naturalne mogą być nieodwracalne i w przyszłości zagrozić życiu biologicznemu, w tym istnieniu ludzi. Według Światowej Organizacji Zdrowia 75% wszystkich chorób człowieka wynika ze złego stanu środowiska naturalnego. Do tzw. ekologicznych zachorowań zalicza się m.in. nowotwory złośliwe, upośledzenie funkcji wątroby, niektóre choroby układu odpornościowego, astmę oskrzelową i upośledzenie reprodukcji (poronienia, bezpłodność, wady rozwojowe).

Często uważa się, że przemysł chemiczny jest głównym sprawcą zanieczyszczenia środowiska naturalnego, choć najwięcej zanieczyszczeń do środowiska odprowadzają energetyka i transport. Natomiast dzięki rozwojowi przemysłu chemicznego powstają coraz czulsze techniki analityczne pozwalające kontrolować zmiany w naszym otoczeniu.

Rozwój chemii analitycznej umożliwia wykrywanie obecności i oznaczanie coraz mniejszych stężeń substancji toksycznych, śledzenie ich przemian i analizę wpływu na środowisko naturalne. Umożliwia to ocenę stanu środowiska, obserwację oraz prognozowanie zmian w nim zachodzących. Wymienione działania noszą wspólną nazwę - **monitoring środowiska.**

Monitoring środowiska może obejmować obszar oddziaływania konkretnego zakładu przemysłowego (**lokalny**), **kraju**, **kontynentu** lub całego globu (**światowy**) oraz dotyczyć **całości** lub **poszczególnych jego elementów** (np. powietrza atmosferycznego, wody czy gleby). Monitoring obejmuje pomiary poziomu zanieczyszczeń, znajdujących się w poszczególnych elementach środowiska naturalnego, określane wspólną nazwą - **imisja**.

Imisją nazywa się te z emitowanych zanieczyszczeń, które zostaną **włączone, przyjęte i zaistnieją w powietrzu atmosferycznym, w wodzie czy glebie, czyli jest to rzeczywiste stężenie zanieczyszczeń w środowisku naturalnym, wyrażane w jednostkach masy na masę lub objętość poszczególnego elementu środowiska**.

Imisja jest ściśle związana z wielkością emisji, warunkami rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń, również zanieczyszczeń transgranicznych.

Emisją nazywa się wprowadzanie do środowiska naturalnego zanieczyszczeń w postaci substancji stałych, ciekłych lub gazowych. Emisja zanieczyszczeń następuje z miejsca, w którym wytwarza się substancje zanieczyszczające. Miejsce to nazywa się źródłem emisji lub emiterem.

Pomiary imisji i emisji są niezwykle istotne w systemie monitoringu środowiska naturalnego.

2. Państwowy Monitoring Środowiska

Dla zapewnienia wiarygodności pomiarów imisji i emisji, ujednoczenia sposobów uzyskiwania, opracowywania i przekazywania informacji o stanie środowiska, ustawą z dnia 20 lipca 1991 roku o Inspekcji Ochrony Środowiska, utworzono **Państwowy Monitoring Środowiska (PMŚ)**.

W myśl tej ustawy (art.23 p. 2) Państwowy Monitoring Środowiska jest "systemem pomiarów, ocen i prognoz stanu środowiska, realizowanym przez jednostki organizacyjne organów administracji państwowej i rządowej, organów gmin, jak również przez szkoły wyższe i podmioty gospodarcze". Celem PMŚ (art.23 p. 3) "jest zwiększenie skuteczności działania na rzecz ochrony środowiska poprzez zbieranie, analizowanie i udostępnianie danych dotyczących stanu środowiska i zmian w nim zachodzących".

Informacje z Państwowego Monitoringu Środowiska są wykorzystywane przez organa administracji rządowej i samorządowej do:

- **zarządzania środowiskiem** za pomocą instrumentów prawnych (np. pozwolenie na wprowadzenie do środowiska substancji, plan ochrony środowiska, plan zagospodarowania przestrzennego i inne),
- **monitorowania skuteczności działań** w ochronie środowiska, planowania zrównoważonego rozwoju regionu uwzględniającego stan i ochronę przed zanieczyszczeniami,
- **realizacji umów międzynarodowych**, podpisanych i ratyfikowanych przez Polskę,
- **opracowywania stanowisk negocjacyjnych** w zakresie ochrony środowiska w ramach Unii Europejskiej.

Prawidłowa realizacja wymienionych zadań musi być oparta na danych o wysokiej jakości, dlatego **głównym celem PMŚ jest wdrażanie nowych programów i technik monitoringowych**, w tym akredytacja laboratoriów badawczych i pomiarowych, kontrola uzyskiwanej dokładności metod analitycznych, również przez udział w krajowych i międzynarodowych badaniach porównawczych oraz współpraca z Komisją Europejską i Europejską Agencją Środowiska.

Zbieranie informacji przez Państwowy Monitoring Środowiska odbywa się cyklicznie, według jednolitych metod i w trzech kategoriach, określających ich funkcje:

- **blok - presje (emisje),**
- **blok - stan (imisja, jakość),**
- **blok - oceny i prognozy.**

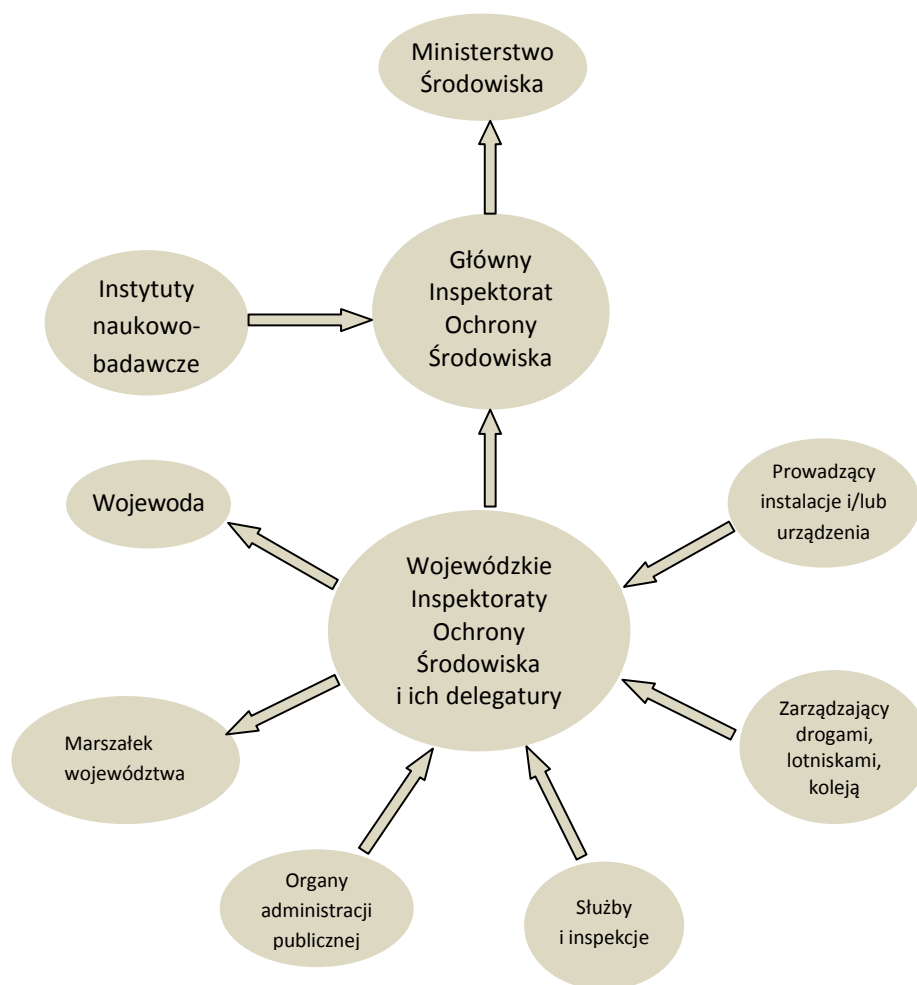
Informacje dla bloku "**presje**" dostarczane są z systemu administracyjnego i Inspekcji Ochrony Środowiska. Jednostki administracyjne zobowiązane są do prowadzenia (wg wymogów unijnych) Rejestru Uwalniania i Transferu Zanieczyszczeń (PRTR) do powietrza, wód i gleby, rejestru danych dotyczących obciążenia hałasem, tzw. map akustycznych, a także badań obciążenia środowiska promieniowaniem elektromagnetycznym (PEM) z linii energetycznych czy stacji telefonii komórkowych.

Blok "**stan**" jest główną częścią systemu Państwowego Monitoringu Środowiska. Obejmuje on następujące podsystemy:

- 1) monitoring jakości powietrza**
- 2) monitoring jakości śródlądowych wód powierzchniowych:**
 - a) monitoring rzek,**
 - b) monitoring jezior,**
- 3) monitoring jakości śródlądowych wód podziemnych,**
- 4) monitoring jakości Morza Bałtyckiego,**
- 5) monitoring jakości gleby i ziemi,**
- 6) monitoring hałasu,**
- 7) monitoring pól elektromagnetycznych,**
- 8) monitoring promieniowania jonizującego,**
- 9) monitoring lasów,**
- 10) monitoring przyrody.**

Podsystemy dostarczają danych dotyczących aktualnego stanu poszczególnych elementów środowiska. Informacje te, zwane pierwotnymi, razem z danymi z bloku "presje" są podstawą zintegrowanej oceny i prognozy stanu środowiska oraz analizy przyczynowo-skutkowej zależności: stan środowiska a działalność społeczno-gospodarcza człowieka. Oceny, analiza i prognozowanie wykonywane są w ramach bloku "**oceny i prognozy**".

Przeływ informacji w systemie Państwowego Monitoringu Środowiska przedstawiono na rysunku 1. Działalnością Państwowego Monitoringu Środowiska w kraju koordynuje Główny Inspektor Ochrony Środowiska podległy Ministrowi Środowiska. Wojewódzkie Inspektoraty Środowiska podlegają wojewodzie, marszałkowi województwa i Głównemu Inspektorowi Środowiska. Na poziomie europejskim zarządzanie ochroną środowiska zajmuje się Komisja Europejska i Europejska Agencja Środowiska. Raporty do obu instytucji zatwierdza w kraju Minister Środowiska.



Rysunek 1. Schemat działania Państwowego Monitoringu Środowiska

3. Monitoring powietrza atmosferycznego

Monitoring to termin określający systematyczny i zaplanowany system przedsięwzięć umożliwiający ocenę jakości wybranego elementu środowiska na określonym terytorium (przestrzeni). Najczęściej przez monitoring rozumie się pobieranie prób i analizę wykonywaną przez automatyczne analizatory pracujące w sposób ciągły, tymczasem do podstawowych celów monitoringu powietrza atmosferycznego zalicza się:

- **kontrolę jakości powietrza i jej zgodności z wymogami normatywnymi**; w tym przypadku wymagane jest stosowanie metody analitycznej ściśle sprecyzowanej przez normy,
- **wykrywanie i określenie udziału poszczególnych emiterów**, przy czym zaprojektowany system musi zapewniać uzyskanie wyników dokładnie przypisanych do czasu i przestrzeni oraz warunków meteorologicznych,
- **badanie efektów oddziaływania zanieczyszczeń na środowisko**, z uwzględnieniem rodzaju efektów, z którymi wyniki pomiarów mają być korelowane (np. z wynikami badań epidemiologicznych),
- **badanie tła i jego trendów**, z uwzględnieniem wpływu warunków geograficznych i sezonowych oraz zastosowaniem metody o niskiej granicy wykrywalności,

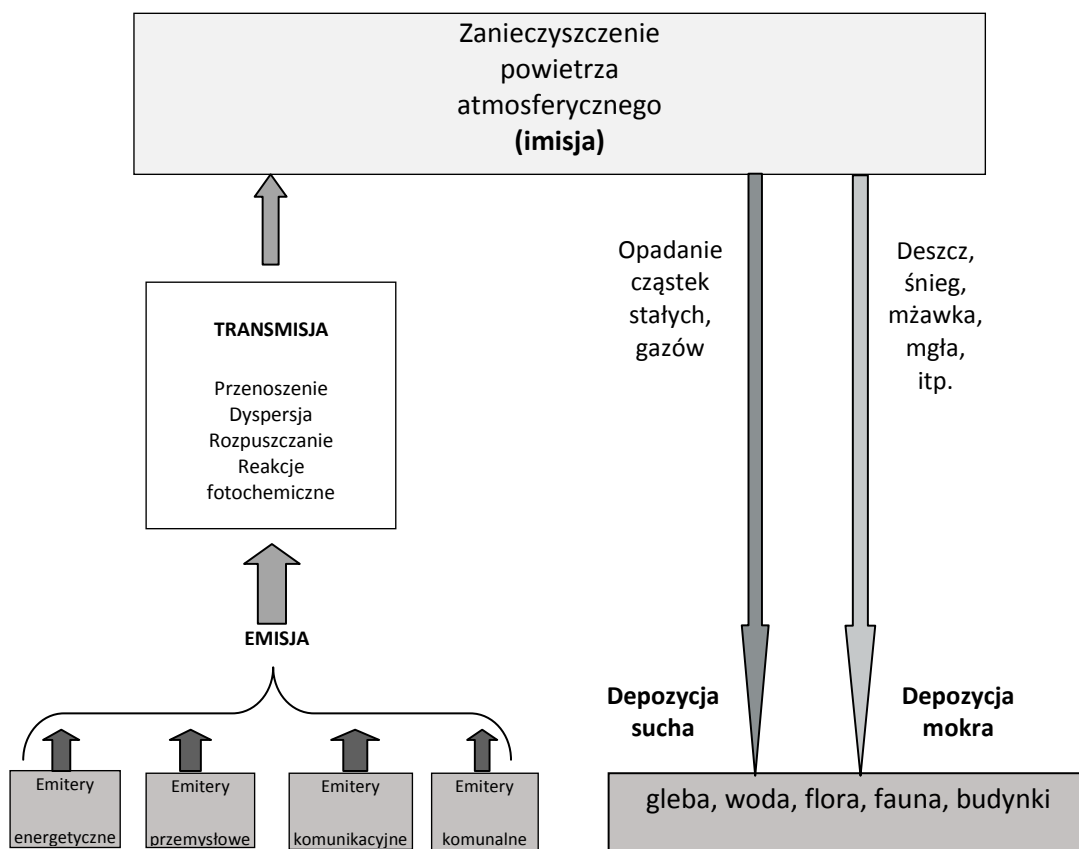
- **badanie procesów zachodzących w atmosferze.**

Powyższe cele warunkują organizację systemu monitorowania a stosowane w monitoringu metody pomiarów muszą charakteryzować się wysoką selektywnością a nawet specyficznością oraz muszą spełniać wymagania dotyczące częstości poboru próbek i ich analizy oraz granicy oznaczalności.

Schemat rozchodzenia się zanieczyszczeń w powietrzu i pojęcia związane monitoringiem powietrza przedstawiono na rysunku 2.

Emisją nazywa się wprowadzanie do atmosfery zanieczyszczeń w postaci substancji stałych, ciekłych lub gazowych. Emisja zanieczyszczeń do powietrza następuje z miejsca, w którym wytwarza się substancje zanieczyszczające. Miejsce to nazywa się **źródłem emisji** lub **emiterem**. Każdy emiter charakteryzują następujące techniczne parametry, które decydują o rozprzestrzenianiu się zanieczyszczeń:

- położenie,
- wielkość powierzchni,
- wysokość punktu emisji,
- **wielkość emisji (ilość substancji wyemitowanej w jednostce czasu),**
- **rodzaj emitowanych zanieczyszczeń.**



Rysunek 2. Schemat rozchodzenia się zanieczyszczeń w powietrzu

W przypadku emiterów przemysłowych często używa się terminu "**zrzut zanieczyszczeń**". Poza technicznymi parametrami emiterów, na rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń mają wpływ warunki meteorologiczne: temperatura powietrza, kierunek i prędkość wiatru oraz opady atmosferyczne. Warunki

klimatyczne wpływają szczególnie na przenoszenie zanieczyszczeń na znaczne odległości (**zanieczyszczenia transgraniczne**) z dużych punktowych emiterów (**emisja wysoka**), natomiast w przypadku **emisji niskiej** mogą zwiększać zanieczyszczenie w najbliższym otoczeniu. Najbardziej uciążliwymi dla czystości powietrza są emitery należące głównie do sektora energetyczno-przemysłowego, z którego pochodzi 60-70% emisji.

Naturalne procesy usuwania zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego (samooczyszczanie) następują poprzez reakcje chemiczne oraz **depozycję mokrą i suchą**.

Depozycja nazywa się procesy usuwania różnych składników powietrza atmosferycznego na powierzchnię ziemi. Usuwanie zanieczyszczeń z atmosfery i osadzanie ich na powierzchni ziemi w trakcie różnych opadów atmosferycznych, takich jak mgła, mżawka, deszcz czy śnieg, nazywane jest **depozycją mokrą**. Mokra depozycja bywa **depozycją kwaśną**, jeśli z powietrza usuwane są kwasy lub związki dające kwasy w reakcji z wodą, rodnikami hydroksylowymi czy atomami tlenu. **Depozycja suchą** nazywa się osiadanie na powierzchni ziemi gazów, aerozoli i cząstek stałych. Depozycja sucha może być depozycją kwaśną, jeśli na powierzchni ziemi osadzą się substancje dające z wodą gleby czy roślin związki o charakterze kwaśnym. Po suchej depozycji kwaśnej, w trakcie deszczu może dojść do podwójnego zakwaszenia, w wyniku kwaśnego deszczu oraz spłukania kwaśnych substancji z różnych powierzchni. Sucha depozycja zachodzi w pobliżu źródeł emisji, mokra może zachodzić nawet w odległości 1000 km od emitera.

Oceny zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego dokonuje się zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 6 czerwca 2002 r. w sprawie oceny poziomów substancji w powietrzu (Dz. U. Nr 87 poz. 798 z 2002 r.), które określa sposoby, metody i zakres dokonywania oceny poziomów substancji w powietrzu. W rozporządzeniu zawarte są również: **wartości progowe**, czyli tzw. górne i dolne progi oszacowania dla substancji o ustalonych poziomach dopuszczalnych, **dopuszczalne częstotliwości przekraczania progów**, **minimalną liczbę tzw. stałych punktów pomiarowych**, **kryteria ich lokalizacji** oraz **metodyki referencyjne prowadzonych pomiarów**. W tabeli 1 przedstawiono przykładowe wartości progowe, tzn. górne i dolne progi oszacowania, dla głównych zanieczyszczeń powietrza oraz dopuszczalne częstotliwości ich przekraczania.

Tabela 1. Przykładowe dopuszczalne poziomy, górne i dolne progi oszacowania oraz dopuszczalne częstotliwości ich przekraczania (progi oszacowania oznaczają procentową część dopuszczalnego poziomu danej substancji)

Nazwa substancji	Okres uśredniania wyników	Dopuszczalny poziom $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Górny próg oszacowania		Dolny próg oszacowania	
			%/wartość $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Dopuszczalna częstotliwość przekroczeń w roku	%/wartość $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Dopuszczalna częstotliwość przekroczeń w rok
NO ₂	1 godzina	200	70/140	18 razy	50/100	18 razy
	1 rok	40	80/32	-	65/26	-
SO ₂	24 godziny	125	60/75	3 razy	40/50	3 razy
Benzen	1 rok	5	70/3,5	-	40/2	-
PM ₁₀	24 godziny	50	60/30	7 razy	40/20	7 razy
	1 rok	40	30/14	-	25/10	-

Dopuszczalne poziomy substancji zanieczyszczających w powietrzu odnosi się do wartości odniesienia, wyrażonych jako stężenie substancji w powietrzu w $\mu\text{g}/\text{m}^3$ i uśrednionych dla okresu

jednej godziny lub jednego roku kalendarzowego (tabela 2). **Wartości odniesienia** podane są w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 5 grudnia 2002 roku w sprawie wartości odniesienia dla niektórych substancji w powietrzu (Dz. U. Nr 1., poz 12 z 2002 r.).

Tabela 2. Wybrane wartości odniesienia dla niektórych substancji w powietrzu

Nazwa substancji	Wartości odniesienia ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) uśrednione dla		Nazwa substancji	Wartości odniesienia ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) uśrednione dla	
	1 godziny	1 roku		1 godziny	1 roku
1,2-Dichloroetan	200	25	Formaldehyd	50	4
Acetaldehyd	20	2,5	Fosgen	10	1,3
Aceton	350	30	Glikol etylenowy	100	10
Acetylen	100	10	Kadm	52	0,01
Amoniak	400	50	Metakrylan butylu	200	20
Anilina	50	10	Metanol	1000	130
Benzen	30	5	Nitrobenzen	50	10
Benzo(a)piren	0,012	0,001	Nitrotoluen	50	3,8
Chlorek benzoilu	50	10	o,m,p Ksilen	100	10
Chlorobenzen	100	8,7	Octan etylu	100	8,7
Chlorofenol	20	2,5	Ołów	5	0,5
Chloroform	200	25	Ozon	150	0
Cykloheksan	10	1	Pirydyna	20	2,5
Cykloheksanol	60	5,2	Propylobenzen	100	13
Tetrachlorek węgla	60	7,6	PM10	280	40
Tetraetylek ołowiu	1,2	0,1	Rtęć	0,7	0,04
Dichlorobenzen	60	5,2	Siarkowodór	20	2
Dichlorometan	200	25	Styren	20	2
Dietyloamina	10	1,3	Substancje smołowe	100	10
Dinitrobenzen	10	1,3	Tetrachloroeten	600	70
Dinitrotoluen	10	0,43	Tlenek węgla	30000	-
Dioksan	50	1,2	Toluen	100	10
Disiarczek dimetylu	5	0,44	Trichloroetan	100	10
Disiarczek węgla	50	10	Trichloroeten	400	60
Ditlenek azotu	200	40	Trietylamina	20	2,5
Ditlenek siarki	350	30	Ttrichloronitrometan	10	1,3
Epichlorhydrina	10	0,76	Węgiel elementarny	150	8
Etylobenzen	500	38	Węglowodory alifatyczne do C ₁₂	3000	1000
Fenol	20	2,5	Węglowodory aromatyczne	1000	43

Wartości odniesienia dla substancji w powietrzu ustala się w temperaturze 293 K i ciśnieniu 101,3 kPa.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami (Ustawa Prawo Ochrony Środowiska z dnia 27 kwietnia 2001 r., Dz. U. Nr 62, poz. 627 wraz z późniejszymi zmianami) **wojewoda**, poprzez Wojewódzki Inspektorat Ochrony

Środowiska, dokonuje raz w roku oceny poziomu substancji w powietrzu w danej strefie (**strefa - obszar aglomeracji lub powiatu liczbie mieszkańców > 250 tys.**) oraz, przynajmniej raz na pięć lat, dokonuje klasyfikacji stref, odrębnie pod kątem poziomu każdej substancji i wyodrębnia strefy, w których **przekroczone są** wartości dopuszczalne. Strefom przydziela się następujące klasy:

- **klasa I (jeżeli poziom substancji przekracza górny próg oszacowania),**
- **klasa II (jeżeli poziom substancji nie przekracza górnego progu oszacowania),**
- **klasa III (jeżeli poziom substancji nie przekracza dolnego progu oszacowania).**

3.1. Metody monitorowania zagrożeń powietrza atmosferycznego

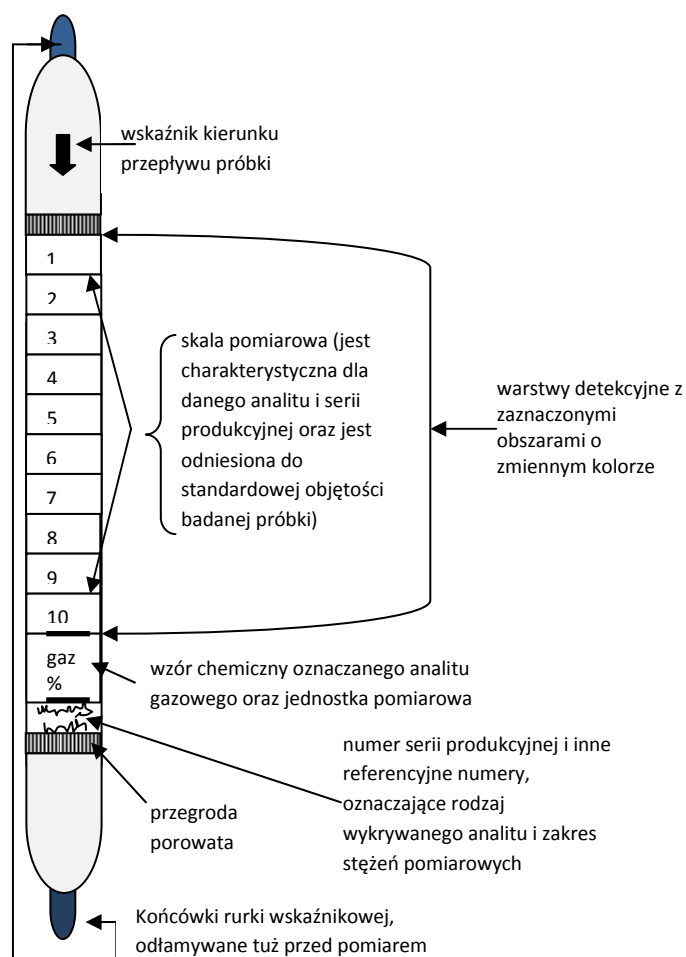
Monitorowanie środowiska to szereg działań mających na celu ochronę środowiska począwszy od wykrycia zagrożenia, pomiaru stopnia zanieczyszczenia, oceny jego skutków oraz sposobu przeciwdziałania skutkom zanieczyszczenia. Wykonywanie pomiarów w określonych jednostkach czasu pozwala śledzić zmiany i ich tendencje oraz przewidywać skutki. W takich elementach środowiska jak gleba czy woda, gdzie szybkość rozprzestrzeniania się zagrożenia jest wolna, monitorowanie środowiska odbywa się poprzez pobieranie próbek w miejscu skażenia. Bardzo często już na miejscu pobrania próbki, w warunkach polowych, można wykonać analizę, jednak zdecydowana większość oznaczeń wykonywana jest po przewiezieniu do laboratorium. W przypadku monitorowania atmosfery taki system jest niewystarczający nawet, gdy oznaczenie można wykonać w miejscu pobrania. Powietrze atmosferyczne jest główną i bardzo szybką drogą przenoszenia zanieczyszczeń między pozostałymi elementami środowiska a niemożność odizolowania się od skażeń atmosfery powoduje powszechne narażenie całej biosfery. W przypadku przedostania się do atmosfery szkodliwego czynnika chemicznego czy biologicznego, już kilkukilometrowy zasięg systemu wykrywania daje kilkuminutowy zapas czasu na ogłoszenie alarmu i zastosowanie środków ochrony (maska, kombinezon i in.), dlatego do monitorowania powietrza atmosferycznego stosowane są **zdalne systemy monitorowania**. Są to systemy wyposażone w różnorodny, czuły sprzęt, umożliwiający wykrywanie zagrożenia na odległość kilku kilometrów, detekcję i pomiar stężenia oraz szybkie przekazywanie danych. Monitorowanie zagrożeń środowiska odbywa się również poprzez **obserwację skutków zanieczyszczeń**, także w innym elemencie środowiska. Badanie jakości opadów atmosferycznych daje obraz stanu zanieczyszczenia powietrza. Pierwszym skutkiem nadmiernej zawartości ditlenku azotu i siarki w atmosferze są **kwaśne deszcze**. Kwaśne deszcze powodują następnie zakwaszenie wód i gleb, stąd odczyn wód czy gleb jest też wskaźnikiem czystości atmosfery. Zanieczyszczenia powietrza negatywnie wpływają na biosferę, w szczególności na ekosystemy leśne. Obserwacja poszczególnych elementów ekosystemu, szczególnie wrażliwych na zanieczyszczenia daje obraz stanu czystości powietrza. Takim wskaźnikiem są **porosty**, które są wrażliwe szczególnie na obecność w powietrzu ditlenku siarki.

3.1.1. Pomiary „in situ”

Do wykrywania i oznaczania stężenia niektórych gazów w miejscu emisji służą **wykrywacze rurkowe**, dające bezpośredni odczyt. Są to małe, najczęściej kieszonkowe aparaty, których główną częścią są rurki wypełnione odpowiednim dla oznaczania danego gazu odczynnikiem, umieszczonym na nośniku stałym (rysunek 3). W czasie przepuszczania powietrza przez rurkę, zawarty w nim oznaczany gaz daje reakcję barwną z odczynnikiem o wyraźnie określonej strefie zmiany zabarwienia. Wykrywacze rurkowe zaopatrzone w pompkę ręczną służą do dokonywania odczytu po krótkim czasie pobierania

próbek, w wykrywaczach bez pompek, pobór próbki polega na dyfuzji cząsteczek gazu w otwartej z jednej strony rurce wykrywającej. Przykłady stosowanych odczynników (wskaźników) w wykrywaczach rurkowych podano w tabeli 3.

Do oznaczania ozonu, ditlenku azotu i tlenku azotu stosowane są wykrywacze rurkowe kapilarne z elektronicznym odczytem wyniku. Do wykrywania gazów, jak: CO, NO i NO₂, w wykrywaczach stosowany jest analizator elektrochemiczny z elektronicznym odczytem stężenia. Stosowane są też wieloczułnikowe, przenośne wykrywacze gazów, którymi można jednocześnie wykrywać np. tlen, tlenek węgla, siarkowodór oraz gazy i pary wybuchowe. Wykrywacze te mogą pracować z zasysaniem próbki lub bez zasysania - poprzez dyfuzję. Aparaty mogą być wyposażone w tzw. „czarną skrzynkę”, w której przechowywane są istotne informacje, jak: stężenia, czas poboru, przerwy w pracy, daty kalibracji i terminy gwarancji czujników. W pomiarach „in situ”, np. przy oznaczaniu składu spalin, stosowane są mierniki działające na zasadzie absorpcji promieniowania elektromagnetycznego o charakterystycznych dla badanych gazów długościach fal. Analizatorem mierzącym absorpcję promieniowania podczerwonego można wykrywać i oznaczać stężenie: SO₂, NO_x (NO, NO₂, N₂O, N₂O₃, N₂O₅), CO, CO₂, HCl i parę wodną.



Rysunek 3. Schemat rurki wskaźnikowej do wykrywania analitu gazowego

Tabela 3. Przykłady wskaźników stosowanych w wykrywaczach rurkowych

Gaz oznaczany	Wskaźnik	Zmiana barwy
CO	Sole palladu	Żółta na szaroniebieską
CO	Pięciotlenek jodu	Biała na zielonobrazową
CO ₂	Wskaźnik alkaliczny	Niebieska na białą
NO ₂	o-Toluidyna	Biała na żółtopomarańczową
NO ₂	N,N'-difenylbenzydyna	Szarzielona na niebieskoszarą
NO _x	N,N'-difenylbenzydyna	Żółta na niebieskoszarą
O ₃	Indygo	Niebieska na białą

3.1.2. Systemy zdalnego monitorowania

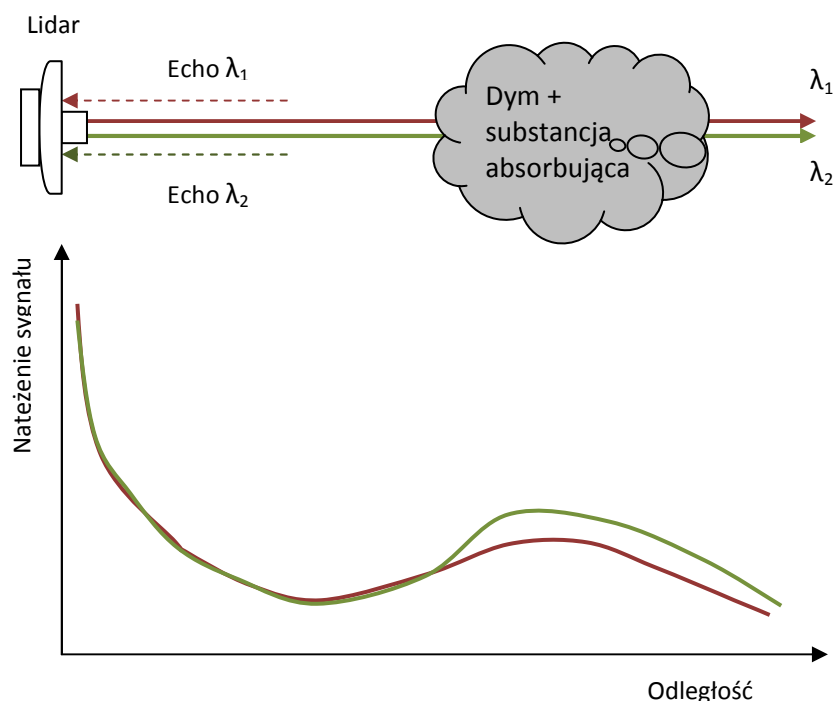
Istnieją dwa systemy zdalnego monitorowania powietrza atmosferycznego:

- wykrywanie na odległość (system typu „stand-off”),
- wykrywanie w miejscu zagrożenia i wysyłanie danych na odległość (system typu „remote”).

Wykrywanie zanieczyszczeń na odległość odbywa się za pomocą urządzeń optycznych, takich jak **lidary** (ang. LIDAR - *Light Detection And Ranging*). Najprostszym lidarem do badania atmosfery jest **lidar rozproszeniowy**. Źródłem promieniowania elektromagnetycznego jest laser impulsowy, wysyłający krótkie i silne impulsy o takiej długości fali, która nie jest absorbowana przez naturalne składniki gazowe atmosfery. Układ optyczny kieruje wiązkę promieniowania z lasera w żądanym kierunku. Światło napotykając na swej drodze różne przeszkody, pyły czy aerozol, ulega rozproszeniu we wszystkich kierunkach, również do tyłu, więc część wraca w kierunku źródła. Powracająca część promieniowania rozproszonego (nazywana **echem**) jest zbierana przez teleskop i kierowana do detektora, mierzącego jej natężenie. Detektorem natężenia światła jest fotopowielacz lub fotodioda. Układ elektroniczny lidar synchronizuje pomiary a całością kieruje komputer. **Położenie źródła rozproszenia wiązki laserowej odczytuje się przez pomiar czasu, jaki upłynął od momentu wysłania impulsu do powrotu światła rozproszonego. Natężenie powracającej wiązki zależy od koncentracji czynnika powodującego rozproszenie.**

Lidary są stosowane również do **selektywnego wykrywania** gazowych zanieczyszczeń w powietrzu atmosferycznym. Wykorzystuje się tu zjawisko absorpcji promieniowania o określonej długości fali przez substancje zanieczyszczające. Są to **lidary absorpcji różnicowej** (ang. *Differential Absorption Lidar*, DIAL). Schemat działania lidar absorpcji różnicowej przedstawiono na rysunku 4. Stosuje się w nim dwie różne wiązki laserowe, jedną - **o długości fali absorbowanej przez oznaczany gaz (λ_1)**, drugą - niewiele różniącą się długością fali od pierwszej, ale **nieabsorbowaną lub absorbowaną bardzo słabo przez oznaczany gaz (λ_2)**, która służy za wiązkę odniesienia. Jeśli na drodze wiązek nie ma substancji absorbującej, natężenie rozproszonego promieniowania będzie w czasie zmieniało się tak samo, jeśli zaś w chmurze dymu rozpraszającego promieniowanie pojawi się substancja absorbująca, natężenie wiązki absorbowanej będzie mniejsze. Typowy zasięg lidar DIAL wynosi 10 km.

Do oznaczania zawartości NO_2 i O_3 w wysokich warstwach atmosfery stosuje się lidary, których podstawą działania jest zjawisko fluorescencji. Laser **lidaru fluorescencyjnego** emituje w postaci impulsów promieniowanie elektromagnetyczne o długości fali absorbowanej przez oznaczaną substancję (z reguły z zakresu UV), pobudzając ją do fluorescencji.



Rysunek 4. Schemat działania lidaru absorpcji różnicowej (DIAL)

Wyemitowane przez substancję promieniowanie, jest ogniskowane przez teleskop i kierowane do detektora. **Widma fluorescencyjne czy długość fali, przy której następuje maksimum świecenia, są charakterystyczne dla danych substancji i są podstawą identyfikacji.** Za pomocą lidarów fluorescencyjnych można wykrywać na powierzchni akwenów wodnych miejsca skażenia ropą naftową i grubość plam ropy (do $10\ \mu\text{m}$) a także jej pochodzenie. Pomiarów lidarem fluorescencyjnym wykonuje się z samolotu.

Do selektywnego wykrywania gazów stosuje się **lidary ramanowskie**. Rozpraszanie promieniowania na cząsteczkach gazu wiąże się z przesunięciem długości fali (zjawisko Ramana), które jest charakterystyczne dla każdej substancji. Laser wysyła impulsy o określonej długości fali a detektor odbiera tylko promieniowanie o długości fali przesuniętej względem długości fali impulsów lasera. Lidary ramanowskie nie są czułe, służą do wykrywania gazów występujących w atmosferze w dużych stężeniach takich, jak: H_2O , CO_2 , O_2 i N_2 . Zasięg monitorowania lidaru ramanowskiego wynosi kilkaset metrów.

Lidarami jak i innymi urządzeniami optycznymi oraz akustycznymi (np. sodarem - *Sound Detection And Ranging*) można mierzyć stężenia takich składników atmosfery jak: pyły, mgły, chmury kropelki kwasu siarkowego powstające z SO_2 , tlenki siarki, azotu, węgla, tlen, ozon i in.. Zdalne wykrywanie zanieczyszczeń nie wymaga wchodzenia na teren skażenia zwłaszcza, jeśli jest ono trudnodostępne, umożliwia również kontrolę w przedsiębiorstwie, bez konieczności przebywania na jego terenie. Lidary umożliwiają także badanie naturalnych źródeł zanieczyszczeń, np. wulkanów oraz wykrywanie i identyfikację broni biologicznej i chemicznej.

W systemie zdalnego monitorowania typu „remote”, czyli wykrywania w miejscu zagrożenia i wysyłania danych na odległość, stosowane są monitory punktowe - urządzenia zapewniające pobieranie próbek, wykrywanie zanieczyszczenia, podstawową obróbkę oraz system wysyłania danych. Podstawową częścią jest **czujnik (sensor)** definiowany przez **Międzynarodową Unię Chemii Czystej i Stosowanej** (ang. *International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*), jako „urządzenie przetwarzające informacje chemiczne w sygnał użyteczny analitycznie”. Czujnik, znajdujący się w kontakcie z zanieczyszczeniem (umieszczany w matrycy próbki), jest to urządzenie do przetwarzania sygnału fizyczno-chemicznego w sygnał analityczny, zwykle elektryczny. Czujniki mogą reagować na powstanie substancji chemicznej, zmiany współczynnika odbicia światła, ruch, zmiana masy, zmiana pola magnetycznego czy elektrycznego, zmiana barwy i in.. Ze względu na mechanizm reakcji wykrywającej czujnika, można je podzielić na kilka grup:

- **elektrochemiczne,**
- **elektryczne,**
- **grawimetryczne,**
- **termometryczne,**
- **magnetyczne,**
- **biologiczne,**
- **optyczne.**

Największą i najszerzej stosowaną grupą czujników są **sensory elektrochemiczne**, stosowane do detekcji: O₃, SO₂, NO₂, CO, CO₂, HCl, HF, C_nH_m, CH₄. Są to różnego typu elektrody, których budowa i zachodząca na nich reakcja elektrochemiczna dostosowana jest do oznaczania wybranych substancji. Sensory elektrochemiczne dzieli się na **potencjometryczne, woltamperometryczne, kulometryczne i konduktometryczne**. **Sensory elektryczne** to ciała stałe, które zmieniają swoje parametry elektryczne w kontakcie z niektórymi substancjami. Warunkiem oddziaływania jest adsorpcja substancji na powierzchni aktywnej czujnika. Sensory elektryczne mogą być wykorzystywane w badaniu cieczy i gazów. Zmiana parametrów sensora może dotyczyć przewodnictwa, potencjału czy ładunku. Stosuje się je do wykrywania NO₂, NO, H₂S, CO, NH₃.

Czujnikami stosowanymi do monitorowania stanu zapylenia są **sensory grawimetryczne**. Zbudowane są z układu detekcyjnego, którego częścią podstawową są kryształy z materiału piezoelektrycznego. Kryształy te wraz ze zmianą masy zmieniają częstotliwość drgań własnych lub prędkość rozchodzenia się fal akustycznych na jego powierzchni. Zmiany te przetwarzane są na sygnał elektryczny.

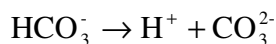
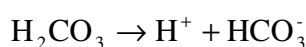
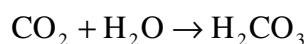
W sensorach kalorymetrycznych i przewodnictwa wykorzystywane jest ciepło reakcji (wytwarzane lub pochłaniane) oznaczanej substancji z warstwą aktywną sensora. Ten typ czujników chemicznych nazywa się **termometrycznymi**. W chemicznych czujnikach wykorzystuje się również wpływ pola magnetycznego na wielkości paramagnetyczne oznaczanych gazów. Jedynym gazem, który ulega przyciąganiu przez silne pole magnetyczne jest tlen. Fakt ten wykorzystano w **analizatorze paramagnetycznym**, służącym do oznaczania stężenia tlenu w mieszaninie innych gazów.

W czujnikach biologicznych (**biosensorach**) wykorzystywane są substancje biologicznie i biochemicznie aktywne: białka, enzymy, przeciwciała, hormony, mikroorganizmy, pojedyncze komórki itp. Element detekcyjny, biologiczny czy biochemiczny, połączony jest z elementem nie biologicznym - przetwornikiem efektu reakcji biochemicznej na sygnał elektryczny. Przetworniki, zwane **transduktorami**, dzieli się ze względu na metodę przekształcania sygnału na: potencjometryczne, woltametryczne, amperometryczne, piezoelektryczne, termistorowe i optoelektroniczne. W czujnikach **optycznych** wykorzystuje się właściwości optyczne elementu detekcyjnego, które ulegają zmianie pod wpływem oddziaływania z substancją oznaczaną. Zmiany mogą dotyczyć absorpcji (sensory spektrofotometryczne), fluorescencji, fosforescencji (sensory luminescencyjne), rozpraszania światła, załamania światła oraz skręcania płaszczyzny polaryzacji.

Oprócz pojedynczych, punktowych czujników stosowane są **systemy ciągłego monitorowania powietrza**, składające się z różnego rodzaju czujników, np. optycznych, półprzewodnikowych i elektrochemicznych. **Systemy wieloczujnikowe** stosowane są w monitorowaniu emisji zanieczyszczeń zakładów przemysłowych.

3.1.3. Monitorowanie atmosfery poprzez obserwację skutków zanieczyszczeń

Wskaźnikiem zanieczyszczenia powietrza jest **jakość opadów atmosferycznych**. Naturalny opad atmosferyczny ma odczyn lekko kwaśny (pH = 5,6), pochodzący z przemiany, naturalnie występującego w atmosferze, CO₂ w kwas węglowy:

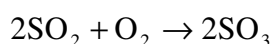
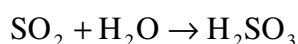


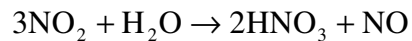
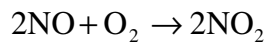
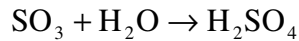
Zanieczyszczenia przedostające się do atmosfery wpływają na zmianę odczynu opadów.

Opady klasyfikuje się wg ich odczynu na sześć klas:

- pH < 4,1 - wysoce zanieczyszczone kwasotwórczymi związkami,
- pH 4,1 – 4,6 – umiarkowanie zakwaszone,
- pH 4,6 – 5,1 – słabo zakwaszone,
- pH 5,1 – 6,1 – praktycznie niezanieczyszczone, o odczynie zbliżonym do opadu naturalnego,
- pH 6,1 – 6,5 – słabo zanieczyszczone zasadowotwórczymi związkami,
- pH > 6,5 – wysoce zanieczyszczone zasadowotwórczymi związkami.

Największy wpływ na zakwaszenie opadów mają związki siarki (60%) i mniejszy, bo są pobierane przez rośliny, związki azotu (24%). Zakwaszenie opadów wywołane jest emisją ditlenku siarki (SO₂) i tlenków azotu (NO_x), które utleniają się do bezwodników mocnych kwasów.





Kwaśne opady czy depozycja sucha zmniejszają zanieczyszczenie powietrza, ale powodują zanieczyszczenie gleby i wody. Skutki tego można obserwować w postaci:

- **osłabienia wegetacji roślin** (niszczenie listowia, zmiany barwy na żółtą i brązową, utrata elastyczności kory, zanikanie korzeni, podatność na ataki szkodników, karłowacenie nawet obumieranie całych roślin),
- **zaniku lub nadmiernego rozwoju niektórych organizmów wodnych,**
- **niszczenia budowli** (murów, na skutek reakcji z wapniem oraz konstrukcji metalowych, na skutek korozji).

Istnieje wiele gatunków roślin i zwierząt uznanych za **biowskaźniki zanieczyszczenia**. Są to organizmy powszechnie występujące, dostępne całorocznie, wykazujące dużą tolerancję dla badanych zanieczyszczeń oraz wyraźne, zewnętrzne oznaki szoku, jeśli zostanie przekroczone stężenie krytyczne zanieczyszczenia w ich otoczeniu. Poza tym, **charakteryzują się one prostą zależnością między stężeniem zanieczyszczenia a parametrem biowskaźnika, służącym do identyfikacji zanieczyszczenia**. Biomonitorami są drzewa - obserwując ich wygląd i zachowanie śledzi się przemieszczanie zanieczyszczeń przemysłowych. Tulipan, frezja są bardzo wrażliwe na fluor, szpinak bardzo mocno reaguje na obecność ozonu. Biowskaźnikami zanieczyszczenia metalami ciężkimi są grzyby, np. borowik, który może kumulować metale ciężkie do większego stężenia niż występującego w otoczeniu grzyba. Wśród zwierząt biowskaźnikami są np.: dżdżownice, rozwielitka, gupik, pstrąg, wyraźnie reagujące na zmianę warunków życia.

Na szczególne wyróżnienie wśród sposobów monitorowania atmosfery poprzez obserwację skutków zanieczyszczeń zasługuje **lichenomonitoring**, czyli monitorowanie zanieczyszczeń środowiska poprzez **obserwację porostów**. Porosty (*Lichenes*) składają się z grzyba i glonu powiązanych ze sobą symbiozą nierozłączną. Takie połączenie sprawia, że porosty mogą egzystować w miejscach niedostępnych dla innych form życia. Występują na skałach, drzewach i na ziemi. Do wstępnej oceny stopnia skażenia środowiska wykorzystuje się porosty występujące na drzewach, **epifity** (epifity występują na wszystkich gatunkach drzew). Porosty występują powszechnie (pokrywają ok. 8% powierzchni Ziemi). Pożywienie pobierają częściowo z podłoża a przede wszystkim bezpośrednio z atmosfery razem z jej zanieczyszczenia (porosty nie mają tkanki okrywającej, dlatego składniki powietrza łatwo przenikają do ich wnętrza). Dzięki temu wpływ atmosfery jest wyraźny, bez wielokierunkowych oddziaływań z innymi elementami środowiska. Porosty wykazują własności sorpcyjne, dlatego są odporne na wiele rodzajów zanieczyszczeń, kumulujących się w ich tkankach, jednocześnie mają na tyle wyraźny próg tolerancji na zanieczyszczenia, że opracowano „skalę porostową” łączącą występowanie danych gatunków ze stanem powietrza na badanym terenie. Dzięki dużej odporności na zanieczyszczenia mogą być wykorzystywane do monitoringu na terenach znacznie zanieczyszczonych. Poza tym są wygodnym materiałem badawczym, łatwym do pozyskania, transportu i przechowywania. Wymienione cechy porostów umożliwiły opracowanie wiele metod oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska nazwanych wspólnym terminem **metod lichenoindykacyjnych**. Ze względu na charakter

mierzalnych zmian, jakie wywołują zanieczyszczenia w porostach (**fizjologiczne, anatomiczne i morfologiczne**), stosuje się cztery metody polegające na:

- **badaniu różnorodności i liczebności porostów,**
- **badaniu zmian anatomiczno-morfologicznych,**
- **badaniu zmian fizjologicznych,**
- **badaniu składu chemicznego.**

Badanie różnorodności i liczebności sprowadza się do trzech podstawowych form plechy porostu: **skorupiaste** (np. liszajec zwyczajny), **listkowate** (np. pustułka pęcherzykowata) oraz **krzaczkowate** (np. brodaczką zwyczajną). Do badań składu chemicznego wykorzystuje listkowate i krzaczkowate. Na podstawie obserwacji zachowania różnych gatunków porostów przy różnych zawartościach SO₂ w powietrzu, na który porosty są szczególnie wrażliwe, opracowano skalę porostową, wiążącą stężenie SO₂ w powietrzu z liczebnością poszczególnych form porostów. Skala porostowa Hawksworth'a i Rose'a wyróżnia 7 stref na podstawie występowania typów plech porostów, rosnących na korze drzew liściastych. Podobną skalę (siedmiostrefową), polegającą na określeniu stopnia skażenia i odpowiadającego mu stężenia SO₂ w powietrzu atmosferycznym na podstawie występowania porostów nadrzewnych (epifitów) o znanej odporności na stężenie ditlenku siarki opracowali J. Kiszka i U. Bielczyk. Wg tej skali poszczególnym strefom odpowiadają określone parametry środowiska (tabela 4).

Lichenomonitoring jest stosowany w Polsce od wielu lat. Najczęściej stosowana jest metoda badania różnorodności i liczebności porostów. Badanie składu chemicznego porostów służy również do oceny pochodzenia zanieczyszczenia, określanego na podstawie składu izotopowego siarki i ołowiu, znajdujących się w aerozolu w powietrzu atmosferycznym.

Tabela 4. Skala porostowa wg J. Kiszki i U. Bielczyka

Strefa skażenia	Stężenie SO ₂ w powietrzu [mg/m ³]	Występowanie porostów	Teren występowania (zanieczyszczenie powietrza)
1	> 170	brak, tzw. pustynia porostowa	silnie skażone okręgi przemysłowe
2	170-100	skorupiaste, proskowe	silne skażenie, miasta i obszary przemysłowe
3	100-70	skorupiaste, proskowe i listkowate	tereny o wyraźnej degradacji środowiska, zadrzewione tereny podmiejskie
4	70-50	skorupiaste, proskowe i listkowate z małym udziałem krzaczkowatych	duży wpływ terenów przemysłowych, lasy w pobliżu miast i terenów przemysłowych
5	50-40	skorupiaste, proskowe i dużo listkowatych z udziałem krzaczkowatych	tereny o słabym zanieczyszczeniu, duże obszary lasów na nizinach i pogórzu
6	40-30	skorupiaste, wrażliwe skorupiaste, listkowate i krzaczkowate	tereny o nieznacznym wpływie zanieczyszczeń przemysłowych, jak rozległe lasy, północno-wschodnia Polska, rejony Karpat
7	< 30	bogata flora porostów, w tym najbardziej wrażliwe	tereny niezanieczyszczone

3.1.4. Monitoring atmosfery w województwie pomorskim

Województwo pomorskie podzielono na 8 stref (*patrz rozdział 3*), w których dokonuje się oceny stanu środowiska naturalnego. Są to:

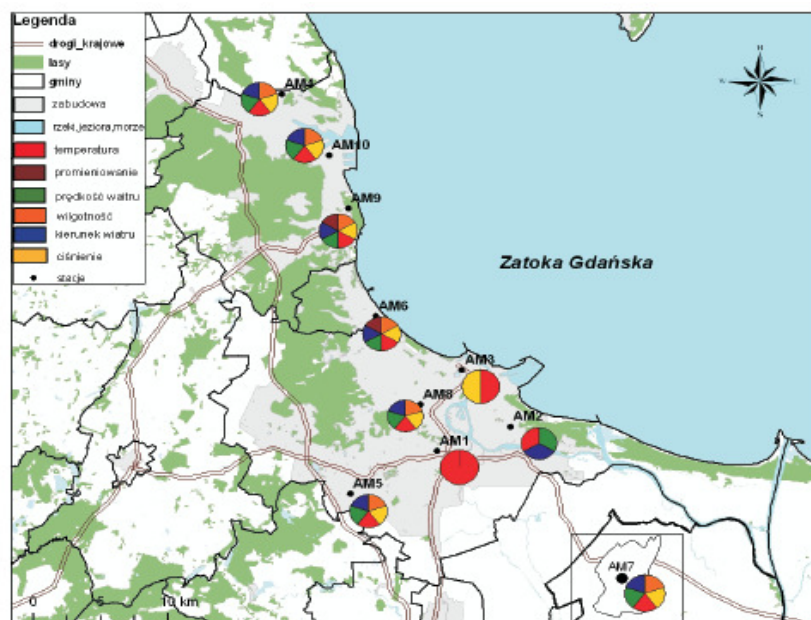
- **aglomeracja trójmiejska,**
- **strefa kartusko-kościerska,**
- **strefa lęborsko-słupska,**
- **miasto Słupsk,**
- **strefa kwidzyńsko-tczewska,**
- **strefa pucko-wejherowska,**
- **strefa bytowsko-chojnicka,**
- **strefa malborsko-sztumska.**

Wojewódzka sieć monitoringu atmosfery obejmuje stacje manualne i automatyczne Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej (IMGW), stacje manualne, pasywne i automatyczne Wojewódzkiej Inspekcji Ochrony Środowiska (WIOŚ), manualne stacje Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej (WSSE) oraz automatyczne stacje **Fundacji ARMAAG (Agencji Regionalnego Monitoringu Atmosfery Aglomeracji Gdańskiej)**. Działalność Fundacji ARMAAG, powstałej w 1997 roku, finansowana jest przez gminy: Gdańsk, Gdynię, Sopot i Tczew oraz Wojewódzki Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Gdańsku. Zadaniem Fundacji jest przeprowadzanie rutynowych pomiarów w stacjach automatycznych, wykonywanie analiz i raportów, organizowanie akcji edukacyjnych, modernizacja systemów łączności i informatyzacji oraz wprowadzenie codziennej prognozy jakości powietrza.

W sieci monitoringu regionalnego Fundacji ARMAAG pracuje 10 stacji. Są to stacje: AM1 - Gdańsk Śródmieście ul.Powstańców Warszawskich, AM2 - Gdańsk Stogi ul.Kaczeńce, AM3 - Gdańsk Nowy Port, ul. Wyzwolenia, AM4 - Gdynia Pogórze, ul.Porębskiego, AM5 - Gdańsk Szadółki, ul.Ostrzycka, AM6 - Sopot, ul. Bitwy pod Płowcami, AM7 - Tczew, ul. Targowa, AM8 - Gdańsk Wrzeszcz, ul. Leczkowa, AM9 - Gdynia Pogórze, ul.Szafranowa, AM10 - Gdynia Port, ul.Wendy, których rozmieszczenie przedstawiono na rysunku 5 (za zgodą zarządu Fundacji ARMAAG).

Stacje Fundacji ARMAAG prowadzą w sposób ciągły pomiary tlenu węgla, ditlenku węgla, tlenu i ditlenku azotu, amoniaku, ozonu, ditlenku siarki, BTEX oraz pyłów PM10. Pomiary stężeń ditlenku siarki, tlenków azotu, ozonu, tlenu i ditlenku węgla wykonuje się metodami spektrofotometrycznymi. Pył PM10 oznaczana się metodą radiometryczną i grawimetryczną, a oznaczenia benzenu, toluenu, etylobenzenu i ksylenów wykonuje się techniką chromatografii gazowej z automatycznym poborem prób.

Równoległe z pomiarami stężeń substancji zanieczyszczających prowadzone są pomiary meteorologiczne, ze względu na duży wpływ warunków pogodowych na wielkość i dyspersję zanieczyszczeń powietrza.



Rysunek 5. Rozmieszczenie stacji ARMAAG w Trójmieście oraz zakres pomiarów meteorologicznych od 2002 roku

3 grudnia 2009 roku powstał projekt: Regionalny system zarządzania informacją o stanie powietrza w województwie pomorskim **AIRPOMERANIA**. Projekt realizowany jest przez ARMAAG i Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska. W ramach projektu powstanie pierwszy w Polsce regionalny system zarządzania informacją o jakości powietrza. System AIRPOMERANIA obejmuje budowę 4 referencyjnych stacji pomiarowych monitoringu powietrza, jednolitą platformę wymiany informacji, narzędzia do wspomagania wykonywania ocen jakości powietrza w strefach i monitorowania programów naprawczych powietrza, system ostrzegawczo alertowy, procedury działań krótkookresowych w sytuacjach smogowych, raporty on-line, system informowania społeczeństwa oraz akcje edukacyjne i szkolenia.

4. Monitoring wód

Parametry wody pitnej, dokładność i częstotliwość ich mierzenia określa Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz. U. z dn. 6 kwietnia 2007 r.). Woda do picia nie powinna zawierać żadnych mikroorganizmów chorobotwórczych i pasożytów. Załącznik nr 1 do Rozporządzenie Ministra Zdrowia podaje, że w 100 ml próbce wody pobranej do badania nie może się znajdować ani jedna jednostka tworząca kolonię (jtk) bakterii *Escherichia coli* ani enterokoków.

Woda przeznaczona do spożycia przez ludzi, **pobierana z ujęć powierzchniowych i głębinowych**, objęta jest **monitoringiem kontrolnym i przeglądownym**. Częstotliwość badań zależy od wielkości ujęcia i liczby mieszkańców zaopatrywanych przez to ujęcie. **Przy najmniejszych ujęciach, woda powinna być poddana przynajmniej 2 razy w roku monitoringowi kontrolnemu i 1 raz na dwa lata monitoringowi przeglądownemu.**

Monitoring kontrolny ujęć powierzchniowych obejmuje:

- **badanie parametrów fizycznych i organoleptycznych** (barwa, mętność, pH, przewodność, zapach i smak),

- **badanie parametrów chemicznych** (jon amonowy, azotany(V), azotany(III), chlor wolny - jeśli woda jest dezynfekowana chlorem i jego związkami, suma chloranów(V) i chloranów(III) - jeśli woda jest dezynfekowana ditlenkiem chloru, glin - jeśli związki glinu są stosowane do koagulacji lub woda naturalna z ujęcia zawiera glin),
- **badanie parametrów mikrobiologicznych** (*Escherichia coli*, enterokoki, bakterie grupy coli, *Clostridium perfringens* łącznie ze sporami).

Monitoring kontrolny wód z ujęć podziemnych obejmuje badanie tych samych parametrów fizycznych i organoleptycznych, parametrów chemicznych rozszerzonych o mangan i żelazo oraz parametrów mikrobiologicznych bez *Clostridium perfringens*.

Monitoring przeglądowy ma szerszy zakres badań i obejmuje:

- **podstawowe badania mikrobiologiczne,**
- **podstawowe badania chemiczne,**
- **dodatkowe badania mikrobiologiczne,**
- **dodatkowe badania organoleptyczne,**
- **dodatkowe badania fizykochemiczne,**
- **dodatkowe badania radiologiczne,**
- **badania chloru wolnego, sumy chloranów(V) i chloranów(III) oraz ozonu w zależności od stosowanych metod dezynfekcji.**

Dla jednolitej oceny stopnia zanieczyszczenia wody opracowano zestaw metod, które należy wykorzystywać w jej badaniach. Metody analityczne zalecane do stosowania w monitoringu wód przedstawiono w tabeli 5 i 6.

Kontrola stanu wód podziemnych wymaga wyznaczenia **punktów poboru**, które będą odpowiadały właściwym do wykorzystania zasobom wody, skali zaopatrzenia w wodę, warunkom hydrogeologicznym warstw wodonośnych (np. kierunkowi spływu wód podziemnych, które określa Mapa Hydrologiczna Polski) i lokalizacji obszarów chronionych. Kryteria wyboru punktów poboru wody muszą również uwzględniać obszary o wzmożonej antropopresji, by móc oceniać zagrożenia dla używanych warstw wodonośnych, śledzić stopień ich degradacji oraz określać trendy i szybkość zmian.

Punkty poboru wody to studnie wiercone, piezometry, studnie kopane i źródła. Strukturę krajowego monitoringu wód podziemnych przedstawiono na rysunku 6.

Ocenę jakości **wód powierzchniowych przeznaczonych do kąpielisk** przeprowadza się na podstawie pomiarów 15 wskaźników bakteriologicznych i fizykochemicznych dotyczących wód naturalnych (Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 16 października 2002 r. w sprawie wymagań, jakim powinna odpowiadać woda w kąpieliskach, Dz. U. nr 183, poz. 1530). W rozporządzeniu podany jest wykaz wskaźników i ich wartości pożądane i dopuszczalne oraz częstotliwość pomiarów. Ocenę przeprowadza się po rocznym okresie obserwacji i jest ona pozytywna, gdy 80 % próbek odpowiada wymaganiom bakteriologicznym a 95% próbek - pozostałym wymaganiom.

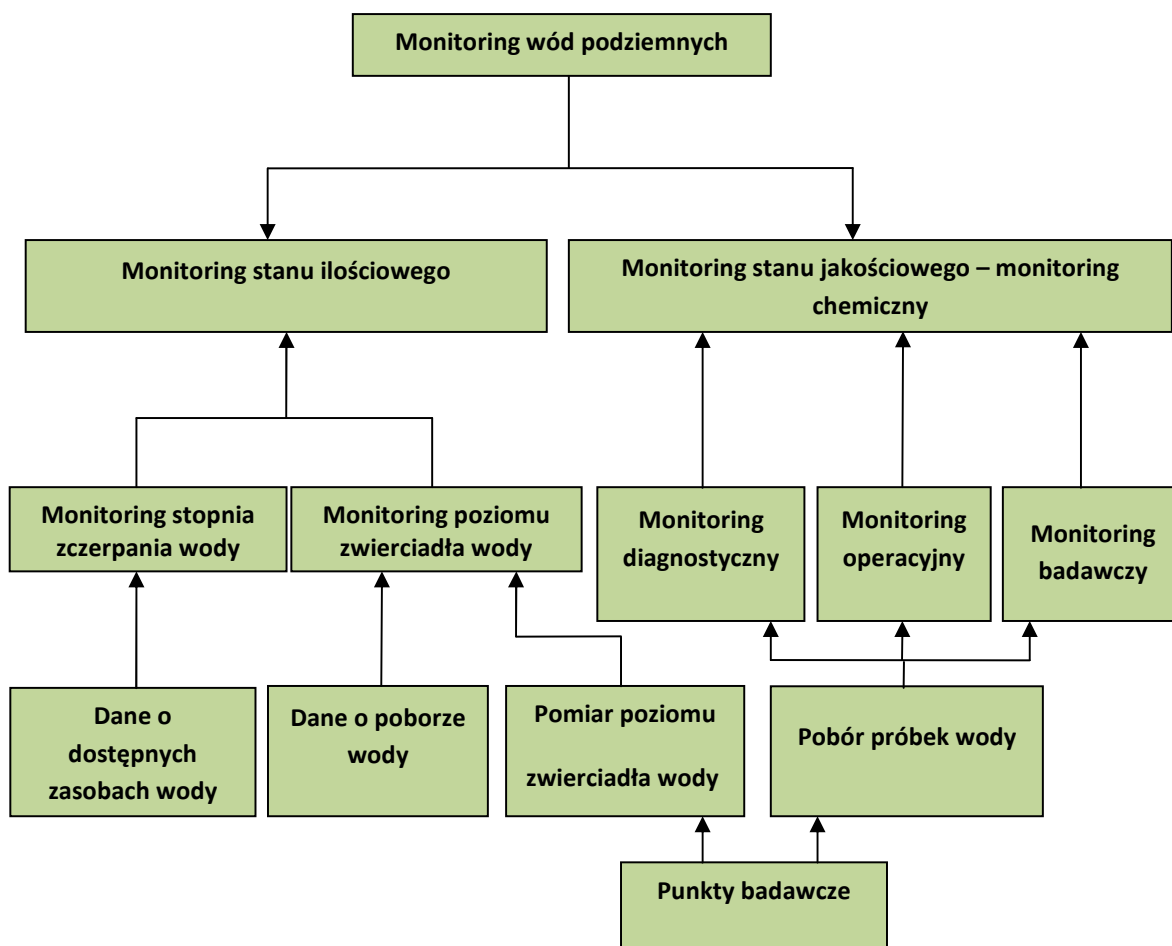
Tabela 5. Metodyki referencyjne analiz (na podstawie: rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 27 listopada 2002 r. w sprawie wymagań, jakim powinny odpowiadać wody powierzchniowe wykorzystywane do zaopatrzenia ludności w wodę przeznaczoną do spożycia)

L.p.	Wskaźniki jakości wody	Jednostki miary	Granica wykrywalności	Precyzja	Dokładność	Referencyjne metody pomiaru
1	pH		-	0,1 jednostki	0,2 jednostki	- Potencjometryczna
2	Barwa	mg/L	5	10	20	-Spektrometria UV-Vis
3	Zawiesiny ogólne	mg/L	5	5	10	-Grawimetryczna
4	Temperatura	°C	-	0,5°C	1°C	-Termometryczna
5	Przewodność	μS/cm przy 20°C	5	5	10	-Konduktometryczna
6	Zapach	Stopień rozcieńczenia przy 25°C	-	-	-	-Metoda kolejnych rozcieńczeń
7	Azotany	mg/L	10	10	20	-Spektrometria UV/Vis -Chromatografia jonowa
8	Fluorki	mg/L	10	10	10	-Spektrometria UV/Vis -Potencjometryczna z wykorzystaniem elektrody jonoselektywnej -Chromatografia jonowa
9	Cyjanki	mg/L	10	10	10	-Spektrometria UV/Vis
10	Siarczany(VI)	mg/L	10	10	10	-Grawimetryczna -Potencjometryczna -Chromatografia jonowa
11	Chlorki	mg/L	10	10	10	-Miareczkowa -Potencjometryczna z wykorzystaniem elektrody jonoselektywnej -Chromatografia jonowa
12	Substancje powierzchniowo czynne anionowe	mg/L	20	20	20	-Spektrometria UV/Vis -Wysokosprawna chromatografia cieczowa-HPLC
13	Substancje powierzchniowo czynne niejonowe	mg/L	25	25	25	-Spektrometria UV/Vis
14	Fosforany	mg/L	10	10	10	-Spektrometria UV/Vis -Atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP-AES
15	Fenole (indeks fenolowy)	mg/L	20	20	20	-Spektrometria UV/Vis
16	Rozpuszczone lub zemułgowane węglowodory	mg/L	20	20	20	-Spektrometria w podczerwieni -Grawimetryczna
17	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne	mg/L	25	25	25	-Wysokosprawna chromatografia cieczowa-HPLC -Wysokosprawna chromatografia gazowa GC
18	Pestycydy ogólne	mg/L	25	25	25	-Wysokosprawna chromatografia cieczowa-HPLC -Wysokosprawna chromatografia gazowa GC
19	Chemiczne Zapotrzebowanie Tlenu(ChZT)	mg/L	20	20	20	-Miareczkowa
20	Tlen rozpuszczony	mg/L	20	20	20	-Elektrochemiczna
21	Biochemiczne Zapotrzebowanie Tlenu (BZT ₅)	mg/L	20	20	20	-Elektrochemiczna

Ocenę jakości **wód naturalnych, będących środowiskiem życia ryb** (nie dotyczy hodowli ryb) dokonuje się w skali roku na podstawie wielkości 14 wskaźników fizyko-chemicznych, mierzonych 1 raz na miesiąc. Rozporządzenie M Ś z dn. 4 października 2002 r. w sprawie warunków, jakim powinny odpowiadać wody śródlądowe będące środowiskiem życia ryb w warunkach naturalnych, Dz. U. nr 176, 2002 r. ustala, jakim warunkom powinny odpowiadać wody będące środowiskiem naturalnym dla ryb łososiowatych (wyższa jakość) i ryb karpowatych (niższa jakość).

Tabela 6. Metodyki referencyjne analiz przygotowane na podstawie rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 27 listopada 2002 r. w sprawie wymagań, jakim powinny odpowiadać wody powierzchniowe wykorzystywane do zaopatrzenia ludności w wodę przeznaczoną do spożycia dotyczące pierwiastków śladowych

L.p.	Wskaźniki jakości wody	Jednostki miary	Granica wykrywalności	Precyzja	Dokładność	Referencyjne metody pomiaru
1	Żelazo	mg/L	10	10	10	-Spektrometria UV/Vis
2	Mangan	mg/L	105	10	10	-Atomowa Spektrometria Absorpcyjna-AAS
3	Cynk	mg/L	10	10	10	-Spektrometria masowa z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej-ICP-MS -Atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP-AES
4	Chrom ogólny	mg/L	105	10	10	
5	Chrom⁺⁶	mg/L	25	25	25	
6	Miedź	mg/L	20	20	20	
7	Kadm	mg/L	10	10	10	Jak wyżej + Polarografia
	Ołów	mg/L	10	10	10	
8	Bor	mg/L	10	10	10	-Atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP-AES
9	Nikiel	mg/L	10	10	10	-Atomowa Spektrometria Absorpcyjna-AAS -Spektrometria masowa z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej-ICP-MS -Atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP-AES -Polarografia
10	Wanad	mg/L	10	10	10	-Atomowa Spektrometria Absorpcyjna-AAS
	Bar	mg/L	20	20	20	-Spektrometria masowa z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej-ICP-MS -Atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP-AES
11	Arsen	mg/L	10	10	10	-Spektrometria UV/Vis -Atomowa Spektrometria Absorpcyjna-AAS
13	Selen	mg/L	105	10	10	-Atomowa Spektrometria Absorpcyjna-AAS
14	Rtęć	mg/L	10	10	10	-Atomowa Spektrometria Absorpcyjna w połączeniu z metodą zimnych par CV-AAS -Atomowa Spektrometria Fluorescencyjna w połączeniu z metodą zimnych par – CV-AFS



Rysunek 6. Schemat działania monitoringu wód podziemnych

Parlament Europejski ustanowił tzw. "Ramową Dyrektywę Wodną" określającą zasady polityki wodnej, której głównymi celami są: ochrona wód przed zanieczyszczeniem, zapobieganie degradacji wód oraz poprawa stanu ekosystemów wodnych. **Zgodnie z tymi zasadami, podstawą polityki wodnej w Polsce jest obserwacja i kontrola jakości wód powierzchniowych poprzez monitoring diagnostyczny (kontrolny), operacyjny (uzupełniający) i badawczy.** Wody, których stan jest słaby lub zły, niegwarantujący poprawy w ciągu kilku najbliższych lat, objęty jest monitoringiem operacyjnym. Monitoring operacyjny obejmuje badanie wskaźników podstawowych i specyficznych, zależnych od rodzaju presji i wykorzystywany jest od oceny krótkoterminowych zmian jakości wód.

Monitoring badawczy stosuje się do tych wód, które nie zostały dotąd rozpoznane. Stosowany jest często przy realizacji Zintegrowanego Monitoringu Środowiska Przyrodniczego.

4.1. Metody monitoringu wód

Badania monitoringowe wody wykonuje się wszędzie, gdzie jest wykorzystywana oraz w punktach sieci obserwacyjno-badawczej. Wody powierzchniowe badane są z ładu, w stałych punktach monitoringowych lub na powierzchni akwenu, z łodzi. Wody podziemne monitoruje się przy pomocy **otworów hydrogeologicznych**, wykonanych w stałych punktach obserwacyjnych lub miejscu skażenia. Są to **studnie, studnie kopalne i piezometry**. Piezometry to wąskie otwory (o średnicy < 10 cm) wywiercone w ziemi dla poboru (obserwacji poziomu) wody do analizy. Badania monitoringowe obejmują również **wywiad terenowy** wokół punktów poboru, dla wykrycia ewentualnych źródeł skażenia. W obserwacji stanu zanieczyszczeń dużych zbiorników wodnych stosuje się **teledetekcję**.

Jest to metoda badawcza za pomocą, której uzyskuje się informację o przedmiocie badań bez fizycznego kontaktu z nim. Informacje można uzyskiwać z łądu, statku, samolotu czy satelity.

W badaniu stanu zanieczyszczeń środowiska wodnego dużą rolę odgrywa również **biomonitoring**, polegający zwykle na długoterminowych obserwacjach występowania, liczebności oraz zachowania wodnych organizmów żywych zwanych bioindykatorami. Obserwacji poddawane są małże, ryby i owady wodne.

4.1.1. Monitoring wód „in situ”

Podstawowe analizy wody oraz pomiar parametrów wody, które szybko ulegają zmianom najczęściej mogą być wykonywane bezpośrednio w zbiorniku wodnym lub, również w terenie, po pobraniu próbki i dodaniu odpowiedniego odczynnika. Analizy wody wymagające specjalistycznego sprzętu muszą być wykonywane w laboratorium, po uprzednim zabezpieczeniu próbek przed procesami zmieniającymi ich skład i właściwości z chwili pobrania. Do **pomiarów terenowych** należą: pomiar temperatury, odczynu wody, zasolenia, przezroczystości, prędkości przepływu (w rzekach), ilości tlenu rozpuszczonego, zawartości wolnego chloru, cyjanków, amoniaku, azotynów i innych. Do wykonywania analiz terenowych stosuje się **aparaty polowe**, tzn. urządzenia spełniające następujące wymogi:

- **mała masa**, umożliwiająca transport przez jedną osobę (od 250 g do 7,5 kg, zwykle umieszczone w walizce),
- **zasilanie z baterii lub akumulatora samochodowego**,
- **uzyskiwanie wyniku w miejscu pomiaru w krótkim czasie** (do kilkunastu minut),
- **precyzyjnie określone takie parametry**, jak: **zakres stężeń** oznaczanych substancji, **dokładność i precyzja pomiarów** oraz **wpływ matrycy** na wynik oznaczenia,
- **prosta procedura** wykonania oznaczenia.

Przykładem historycznej (stosowanej od 1865 r.) analizy wody jest **pomiar mętności** (przezroczystości) za pomocą **krążka Secchiego**. Krążek ma średnicę 20-30 cm, razem z balastem jest zamocowany na wyskalowanej w jednostkach długości linie. Białe krążki stosuje się w badaniu wody morskiej a czarno-białe do wody w jeziorze. Krążek powoli opuszcza się w wodzie, aż zniknie z oczu obserwatora (pierwsza głębokość), następnie powoli podciąga, aż znowu ukaże się w polu widzenia (druga głębokość). Uśredniona głębokość nazywa się głębokością krążka Secchiego lub głębokością Secchiego i jest miarą przejrzystości wody, która zależy od barwy wody, ilości zawiesiny, obecności glonów, pochłaniania i odbicia światła od powierzchni wody. Głębokość Secchiego jest wypadkową wymienionych czynników. Pomiar głębokości Secchiego jest ciągle powszechnie stosowany, jako najprostszy sposób porównania cech wody w obrębie jednego lub kilku zbiorników. Metoda krążka Secchiego stosowana jest też, jako odniesienie do pomiarów teledetekcyjnych zbiorników wodnych. **Współczesne mętnościomierze** to systemy optyczne wykorzystujące promieniowanie podczerwone lub widzialne. Mętnościomierze zamknięte są w odpornej obudowie, umożliwiającej pomiary nawet w trudnych warunkach polowych.

Na rynku istnieje wiele aparatów do badań terenowych wody, w których wykorzystuje się pomiary elektrochemiczne i kolorymetryczne. Aparaty elektrochemiczne służą do pomiarów: pH, stężenia różnych jonów poprzez wykorzystanie odpowiednich elektrod jonoselektywnych, zasolenia, przewodnictwa wody poprzez wykorzystanie konduktometrów. Aparaty kolorymetryczne to szeroka gama urządzeń, od

prosty, z wykorzystaniem papierków wskaźnikowych, do spektrofotometrów z siatką dyfrakcyjną wyposażonych w komputer. W zależności od rodzaju zjawiska, będącego podstawą pomiaru oraz złożoności przyrządu stosowane są aparaty przenośne, mierzące jeden, kilka lub kilkadziesiąt parametrów. Przykłady aparatów przenośnych, stosowanych w analizach wody podano w tabeli 7.

Oprócz wymienionych i wielu innych, podobnych aparatów, stosowane są testy paskowe, krążkowe, kropelkowe, cyfrowe urządzenia do miareczkowania oraz testy mikrobiologiczne oznaczania toksyczności wody. W testach mikrobiologicznych wykorzystywane jest zjawisko naturalnej luminescencji bakteryjnej. Bakterie ożywiane są przed testem i zadawane wodą badaną. Jeśli woda zawierała związki toksyczne, bakterie giną i luminescencja jest osłabiana. Testy przeprowadza się w przenośnym inkubatorze, zasilanym na baterie, a wynik otrzymuje się w ciągu 30 min (np. w aparacie LUMISTox 300, f-my Dr. Bruno Lange GmbH, Niemcy).

Tabela 7. Aparaty przenośne stosowane w analizach wody

L.p.	Model aparatu	Parametr mierzony; stosowana długość fali
1.	942 f-my pHOX	pH, temperatura
2.	952 f-my pHOX	Przewodność, temperatura
3.	962 f-my pHOX	Tlen rozpuszczony, temperatura
4.	982 f-my pHOX	Temperatura, zawartość NH_4^+ i NH_3
5.	201-205 f-my pHOX	Temperatura, przewodność, pH, mętność, potencjał redoks, głębokość, zawartość tlenu rozpuszczonego i NH_3
6.	DR/800 f-my HACH	Chlor wolny i całkowity, amoniak, żelazo i in.; 420, 520, 560, 610 nm
7.	DR/2000 f-my HACH	Chlor wolny i całkowity, amoniak, azot w różnych postaciach i ogólny, tlen, tłuszcz, krzemionka, metale ciężkie i in.(razem 60 parametrów); 400-900 nm
8.	NOVA 60 Spectroquant® f-my Merck	Rutynowa analiza wody (130 metod testowych w pamięci + możliwość wprowadzenia 50 dalszych)

4.1.2. Teledetekcja w monitoringu wód

Teledetekcja stosowana jest do wykrywania zanieczyszczeń ropopochodnych w środowisku morskim. Obserwacja powierzchni wody w dużych akwenach prowadzona jest z wież, znajdujących się na lądzie, z balonów unoszących się nad wodą, z samolotów i satelitów. W urządzeniach znajdujących się w wymienionych obiektach wykorzystuje się fakt odmiennego zachowania się plamy oleju niż powierzchni czystej wody. Rodzaj urządzenia zależy od istoty wykorzystywanego do pomiaru zjawiska fizycznego. Przykłady głównych technik stosowanych w teledetekcji zanieczyszczeń związkami ropy naftowej przedstawiono w tabeli 8. Rejon Morza Bałtyckiego jest patrolowany przez samoloty wyposażone najczęściej w radar boczny SLAR, skaner UV i IR, mikroradiometr oraz kamery przeznaczone do dokumentacji wizualnej.

Tabela 8. Techniki stosowane w monitoringu zdalnym wód powierzchniowych

L.p.	Technika/Urządzenie	Zasada pomiaru	Zastosowanie
1.	Techniki wizualne/ telekamery	Pomiar odbitego światła widzialnego	Pomiary wykonywane są tylko w dzień, ograniczony zasięg
2.	Skaner IR	Pomiar emitowanego promieniowania z zakresu podczerwieni (w ciągu dnia plama oleju ma wyższą temperaturę niż powierzchnia czystej wody)	Mało dokładne, widoczne plamy oleju o grubości od kilkadziesiąt μm wzwyż
3.	Skaner UV	Pomiar odbitego promieniowania z zakresu ultrafioletu (plama oleju odbija w większym stopniu niż czysta woda)	Można wykryć plamę o grubości poniżej 10 μm , ale tylko w dzień
4.	Skaner fluorescencyjny	Pomiar fluorescencji oleju wywołanej światłem laserowym z zakresu nadfioletu	Mogą być stosowane tylko w idealnych warunkach pogodowych, interferują związki organiczne zawarte w wodzie, których ilość też można oznaczać tą metodą
5.	Radar SLAR (pokładowy radar obserwacji bocznej, ang. SLAR) oraz radar SAR (radar z syntetyczną aperturą, ang. SAR)	Pomiar rozproszonego do tyłu promieniowania mikrofalowego, olej zmienia obraz na radarze, bo tłumi fale kapilarne na wodzie	Przeszkadza wiatr o prędkości mniejszej niż 1,5 m/s oraz powyżej 6 m/s, urządzenie skanujące wraz z przemieszczaniem się samolotu, na którym się znajduje

4.1.3. Biomonitoring wód

W biomonitoringu wody używa się ryby, małże słodkowodne i owady wodne. Długoterminowe obserwacje występowania, liczebności i zachowania bioindykatorów pozwalają ocenić zmiany w stopniu zanieczyszczenia akwenu. Niektóre gatunki ryb i małży słodkowodnych mogą być podstawą systemu szybkiego ostrzegania. Takie systemy, będące połączeniem zachowań zwierząt z czujnikami elektronicznymi są stosowane w miejscach wypuszczania ścieków lub w miejscach powierzchniowych ujęć wodnych. Ryby umieszcza się w klatkach uniemożliwiających ucieczkę, przez które przepływa strumień badanej wody czy ścieku. Jeśli w strumieniu pojawi się substancja toksyczna, ryby zmieniają swoje zachowanie, unikają toksycznego nurtu i przemieszczają się w obszar działania czujników. Impulsy z czujników są rejestrowane przez komputer lub włączają systemy alarmowe.

Małże słodkowodne są bardzo wrażliwe na zanieczyszczenie wody związkami toksycznymi; reagują nagłym, całkowitym zamknięciem muszli.

W ujęciu wody z Jeziora Straszynskiego, oprócz rutynowych, laboratoryjnych analiz parametrów fizyko-chemicznych wody prowadzony jest biomonitoring. Rolę bioindykatora pełni pstrąg tęczowy

umieszczony w akwarium przepływowym zasilanym wodą z jeziora. Biomonitoring prowadzony jest też z udziałem skójki zaostrej (gatunek małży słodkowodnej). Akwarium, w którym znajdują się małże jest zasilane bezpośrednio z jeziora. W akwarium znajduje się 8 osobników, których ruchy monitoruje się przez całą dobę. Gwałtowne zamknięcie muszli większości małży lub powolne zamknięcie, ale również większości osobników, jest sygnałem alarmowym. W razie alarmu dyspozytor zamyka stację uzdatniania wody i prowadzone są szczegółowe badania chemiczne i mikrobiologiczne wody pobranej ze zbiornika z małżami.

5. Monitoring jakości gleby i ziemi

Monitoring jakości gleby i ziemi, jako podsystem, wchodzi w skład głównej części Państwowego Monitoringu Środowiska, którą jest jakość środowiska (blok stan - imisja, jakość). Podsystem dostarcza danych dotyczących aktualnego stanu elementu środowiska, jakim jest gleba i ziemia. Informacje te, zwane pierwotnymi, razem z danymi z bloku "presje" są podstawą zintegrowanej oceny i prognozy stanu gleby i ziemi oraz analizy przyczynowo-skutkowej zależności - stan a działalność społeczno-gospodarcza człowieka. Oceny, analiza i prognozowanie wykonywane są w ramach bloku "oceny i prognozy".

Monitoring jakości gleby i ziemi jest systemem złożonym. **Krajowy monitoring gleb rolniczych** prowadzony jest przez **Instytut Upraw i Nawożenia Gleby (IUNG)** w Puławach w punktach pomiarowo-kontrolnych na terenie całego kraju. **Punkty pomiarowo-kontrolne znajdują się na gruntach ornych** i są reprezentacyjne dla typowo rolniczych terenów oraz obszarów będących w zasięgu źródeł zanieczyszczeń. Z 216 krajowych punktów pomiarowo-kontrolnych, 9 znajduje się na terenie województwa pomorskiego i są one zlokalizowane w następujących gminach: Trzebielino, Puck, Szemud, Cedry Wielkie, Gniew, Nowy Dwór Gd., Lichnowy, Kwidzyn i Stężyca. **Monitoring krajowy wspomagany jest monitoringiem gleb przeprowadzanym przez Wojewódzką Inspekcję Ochrony Środowiska (WIOŚ) i wykonywany jest w pięcioletnich cyklach.**

Lokalny monitoring jakości gleby i ziemi skoncentrowany jest na zmianie jakości gleby i ziemi pod wpływem antropopresji. Zadaniem jego jest:

- **określanie obszarów lokalnych zanieczyszczeń gleb i ziemi,**
- **wybranie obszarów, dla których trzeba podjąć procesy naprawcze i rekultywację,**
- **udostępnianie informacji o terenach, na których przekroczone standardy jakości (rejestr obszarów),**
- **przekazywanie tych informacji w celu sporządzenia przez Główną Inspekcję Ochrony Środowiska informacji ogólnopolskiej (rejestr ogólnopolski obszarów).**

Monitoring jakości gleby i ziemi jest prowadzony wieloetapowo. Na **etapie wstępnym** następuje wskazanie obszarów, na których istnieje możliwość zanieczyszczenia. Wskazanie wykonuje się na podstawie informacji od organów kontrolnych lub innych oraz skarg mieszkańców.

Na wytypowanym wstępnie terenie określa się listę niebezpiecznych substancji, które mogą powodować zagrożenie (**etap I**). **Pierwszą fazą jest identyfikacja i wstępna ocena wszystkich**

potencjalnych źródeł zanieczyszczeń (PZZ), czyli: zakładów przemysłowych, składowisk odpadów, tras ruchu samochodowego o dużej intensywności, skażonych cieków wodnych i wielu innych źródeł zanieczyszczeń. W drugiej fazie następuje zebranie informacji o wynikach dotychczas przeprowadzanych badań gleb na obszarze działania PZZ. Na podstawie zebranych informacji następuje eliminacja tych PZZ, które nie stanowią zagrożenia. Z zagrażających typuje się do badań wstępnych te obszary zasięgu działania PZZ, o których brak wystarczającej informacji i do badań szczegółowych te obszary, dla których już stwierdzono przekroczenie standardów jakości. **Ostatnią fazą etapu I jest wpisanie do rejestru obszarów zanieczyszczonych uzyskanych informacji.**

Potwierdzenie lub wykluczenie obecności wytypowanych substancji odbywa się przez przeprowadzenie **pomiarów wstępnych (etap II)**. Ten etap też jest wielofazowy, po pierwsze należy wyznaczyć punkty pomiarowe do badań wstępnych i określić ich współrzędne geograficzne techniką GPS (ang. *Global Positioning System*) z dokładnością do 1 m. Następnie wykonać pomiary i opracować wyniki, na których podstawie potwierdzić lub wykluczyć zagrożenie. Aby wyeliminować PZZ, w żadnym punkcie badań wstępnych nie może być przekroczenia standardów jakości gleby. **Obszary zagrożone typuje się do analizy szczegółowej.**

Zidentyfikowane substancje na etapie II poddaje się **analizie szczegółowej i określa ich stężenie (etap III)**. W wyznaczonych techniką GPS punktach pomiarowych do badań szczegółowych oznacza się stężenia substancji poprzednio wytypowanych i opracowuje wyniki, na których podstawie typuje się obszary do rekultywacji, jeśli standardy jakości gleb zostały przekroczone w szerszym zakresie.

Przygotowanie pełnej dokumentacji o przekroczeniu standardów jakości gleby i ziemi (rejestr obszarów) oraz wskazanie terenów do rekultywacji jest etapem IV, ostatnim etapem monitoringu środowiska.

Rekultywacja jest obowiązkiem zarządzającego zanieczyszczonym terenem.

O sposobie działań naprawczych mówi Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 4 czerwca 2008 r. w sprawie rodzajów działań naprawczych oraz warunków i sposobu ich prowadzenia. W przypadku szkody w środowisku w gatunkach chronionych, chronionych siedliskach przyrodniczych lub w wodach należy podjąć działania:

- **podstawowe,**
- **uzupełniające,**
- **kompensacyjne.**

W pierwszej kolejności prowadzi się **podstawowe działania naprawcze**, które powinny przywrócić stan początkowy albo przybliżony do stanu początkowego, możliwie w najkrótszym czasie. Jeżeli podstawowe działania naprawcze nie przywróciły lub mogą nie przywrócić stanu początkowego, podejmuje się **uzupełniające działania naprawcze**, jeśli i te nie pomogą, prowadzi się **kompensacyjne działania naprawcze**. Prowadząc działania naprawcze, uwzględnia się:

- najlepsze dostępne techniki,
- możliwość wykorzystania naturalnej regeneracji elementów przyrodniczych, jeżeli przynosi ona największe korzyści dla środowiska.

W uzupełniających lub kompensacyjnych działaniach naprawczych jest możliwe zastępowanie

elementów przyrodniczych lub ich funkcji równoważnymi, innymi elementami przyrodniczymi, odpowiednimi jakościowo i ilościowo. Jeśli nie jest to możliwe, utracone elementy przyrodnicze lub ich funkcje odbudowuje się w innym miejscu. Działania naprawcze prowadzone w przypadku szkody w środowisku w powierzchni ziemi polegają na:

- usunięciu bieżącego lub przyszłego zagrożenia dla zdrowia ludzi,
- przywróceniu jakości gleby i ziemi do stanu zgodnego ze standardami.

W sposobie prowadzenia działań naprawczych uwzględnia się przepisy **Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (Dz. U. Nr 165, poz. 1359)**. W rozporządzeniu określa się standardy jakości gleby lub ziemi (tab. 9, 10, 11, 12 i 13), z uwzględnieniem ich funkcji dla następujących grup rodzajów gruntów:

- **grupa A:** gleby chronione na podstawie przepisów ustawy Prawo wodne oraz przepisów o ochronie przyrody,
- **grupa B:** gleby rolnicze, leśne i zakrzewione, nieużytki, grunty zabudowane i zurbanizowane,
- **grupa C:** tereny przemysłowe, użytki kopalne, tereny komunikacyjne.

W tabeli 9. przedstawiono dopuszczalne stężenia metali i cyjanków w mg/kg suchej masy dla trzech grup gleb z uwzględnieniem ich roli. W tabeli 10. przedstawiono standardy jakości gleb dla różnych węglowodorów w mg/kg suchej masy. Dopuszczalne wartości węglowodorów chlorowanych w glebie przedstawiono w tabeli 11. Skażenie polichlorowanymi węglowodorami (PCB) dotyczy głównie środowiska glebowego. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (Dz. U. Nr 165, 2002 r., poz. 1359) określa standardy jakości dla sumy PCB, przy czym PCB definiowane są zgodnie z Ustawą Prawo Ochrony Środowiska z dnia 27 kwietnia 2001 r. (Dz.U. 2001 r., nr 62 poz. 627) art. 3 pkt. 17, wprowadzającą definicję roboczą PCB, wg której **PCB to suma wszystkich polichlorowanych difenyli, polichlorowanych trifenyli, monometylotetrachloro-difenylometanu, monometylodichlorodifenylometanu, monometylofibromo-difenylometanu oraz mieszanin zawierających jakąkolwiek z tych substancji w ilości powyżej 0,005 % łącznie.**

Należy zauważyć, iż dla wszystkich substancji, wymienionych w tabelach od 9 do 13 podano różne wartości w zależności od głębokości, na jakiej znajduje się gleba oraz w zależności od wodoprzepuszczalności gruntu - poniżej lub powyżej $1 \cdot 10^{-7}$ m/s (wartość przewodnictwa hydraulicznego nasyconego).

Tabela 9. Dopuszczalne wartości stężeń metali i cyjanków w trzech grupach gleb

L.p.	Metale	Grupa A	Grupa B				Grupa C			
			Głębokość (w metrach pod poziomem terenu)							
			0-0,3	0,3-15		>15		0-2	2-15	
			Wodoprzepuszczalność gruntu (10^{-7} m/s)							
				do	poniżej	do	poniżej		do	poniżej
1	Arsen	20	20	20	25	25	55	60	25	100
2	Bar	200	200	250	320	300	650	1000	300	3000
3	Chrom	50	150	150	190	150	380	500	150	800
4	Cyna	20	20	30	50	40	300	350	40	300
5	Cynk	100	300	350	300	300	720	1000	300	3000
6	Kadm	1	4	5	6	4	10	15	6	20
7	Kobalt	20	20	30	60	50	120	200	50	300
8	Miedź	30	150	100	100	100	200	600	200	1000
9	Molibden	10	10	10	40	30	210	250	30	200
10	Nikiel	35	100	50	100	70	210	300	70	500
11	Ołów	50	100	100	200	100	200	600	200	1000
12	Rtęć	0,5	2	3	5	4	10	30	4	50
	Związki nieorganiczne									
1	Cyjanki wolne	1	1	5	6	5	12	40	5	100
2	Cyjanki związki kompleksowe	5	5	5	6	5	12	40	5	500

Tabela 10. Wartości odniesienia stężenia węglowodorów (WWA, benzyny, oleju mineralnego, lotnych węglowodorów aromatycznych, mg/kg s.m.) w trzech rodzajach gleb (poprzez sumę WWA rozumie się sumę poziomu stężeń: naftalenu, fenantrenu, antracenu, fluorantrenu, chryzenu, benzo(a)antracenu, benzo(a)pirenu, benzo(k)fluorantenu i benzo(ghi)perylenu; wg rozporządzenia, glebę lub ziemię uznaje się za zanieczyszczoną, gdy stężenie co najmniej jednej z substancji przekracza wartość dopuszczalną)

L.p	WWA	Grup a A	Grupa B				Grupa C					
			Głębokość (w metrach pod poziomem terenu)									
			0-0,3		0,3-15		>15		0-2		2-15	
			wodoprzepuszczalność gruntu (10^{-7} m/s)									
					do		poniżej		do		poniżej	
1	Naftalen	0,1	0,1	5	20	10	40	50	10	40		
2	Fenantren	0,1	0,1	5	20	10	40	50	10	40		
3	Antraceni	0,1	0,1	5	20	10	40	50	10	40		
4	Fluoranteni	0,1	0,1	5	20	10	40	50	10	40		
5	Chryzen	0,1	0,1	5	20	10	40	50	10	40		
6	Benzo(a)antraceni	0,1	0,1	5	20	10	40	50	10	40		
7	Benzo(a)piren	0,02	0,03	5	10	5	40	50	5	40		
8	Benzo(k)fluoranteni	0,1	0,1	5	10	5	40	50	5	40		
9	Benzo(ghi)perylene	0,1	0,1	10	10	5	40	50	5	100		
10	Suma WWA	1	1	20	40	20	200	250	20	200		
11	Benzyna suma (węglowodory C6-C12)	1	1	5	35	50	750	500	50	750		
12	Olej mineralny (węglowodory C12-C35)	30	50	200	1000	1000	3000	300 0	1000	3000		
	Węglowodory aromatyczne											
1	Benzen	0,05	0,1	0,2	25	3	50	100	3	150		
2	Etylobenzen	0,05	0,1	1	75	10	150	200	10	250		
3	Toluen	0,05	0,1	1	75	5	150	200	5	250		
4	Ksylene	0,05	0,1	1	35	5	75	100	5	150		
5	Styren	0,1	0,1	1	5	2	100	60	2	100		
6	Suma węglowodorów aromatycznych	0,1	0,1	1	75	10	150	200	10	250		

Tabela 11. Wartości odniesienia stężenia węglowodorów chlorowanych (mg/kg s.m.) w trzech rodzajach gleb

L.p.	Węglowodory chlorowane	Grupa A	Grupa B				Grupa C					
			głębokość (w metrach pod poziomem terenu)									
			0-0,3	0,3-15		>15		0-2	2-15			
			wodoprzepuszczalność gruntu (10^{-7} m/s)									
				do	poniżej	do	poniżej		do	poniżej		
1	Alifatyczne chlorowane pojedyncze lotne	0,01	0,01	0,1	5	1	10	5	1	20		
2	Alifatyczne chlorowane (suma)	0,01	0,01	0,15	7	3	40	60	2	40		
3	Chlorobenzeny pojedyncze	0,01	0,01	0,1	1	0,5	10	15	0,5	10		
4	Chlorobenzeny (suma)	0,01	0,01	0,1	2	0,8	20	25	0,8	20		
5	Chlorofenole pojedyncze	0,001	0,001	0,01	0,5	0,2	1	1	0,2	5		
6	Chlorofenole (suma)	0,001	0,001	0,001	1	0,5	10	10	0,5	10		
7	PCB	0,02	0,02	0,1	1	0,5	5	2	0,5	5		

Tabela 12. Wartości dopuszczalnych stężeń (mg/kg s.m.) pestycydów w trzech rodzajach gleb

L.p.	Środki ochrony roślin*	Grupa A	Grupa B				Grupa C			
			głębokość (w metrach pod poziomem terenu)							
			0-0,3	0,3-15		>15		0-2	2-15	
			wodoprzepuszczalność gruntu (10^{-7} m/s)							
	do	poniżej	do	poniżej		do	poniżej			
1	DDT/DDE/DDD	0,0025		0,025	4	0,25	4	0,25	0,25	4
2	Aldrin	0,0025	0,025	0,025	4	0,25	4	0,25	0,25	4
3	Dieldrin	0,0005	0,005	0,005	4	0,005	4	0,5	0,005	4
4	Endrin	0,001	0,01	0,01	4	0,01	4	0,1	0,01	4
5	α -HCH	0,0025	0,025	0,025	2	0,025	2	0,25	0,025	2
6	β -HCH	0,001	0,01	0,01	2	0,01	2	0,1	0,01	2
7	γ -HCH	0,000005	0,0005	0,0005	0,5	0,005	0,5	0,005	0,0005	0,5
8	Carbaryl	0,01	0,2	0,1	5	0,1	-	0,2	0,1	5
9	Carbofuran	0,01	0,2	0,1	2	0,1	2	0,2	0,1	2
10	Maneb	0,01	0,2	0,1	35	0,1	35	0,2	0,1	35
11	Atrazin	0,00005	0,05	0,0005	6	0,005	6	0,5	0,005	6

* 1-7 pestycydy chloro organiczne, 8-11 pestycydy niechlorowane

Tabela 13. Wartości dopuszczalnych stężeń (mg/kg s.m.) różnych zanieczyszczeń w trzech rodzajach gleb

L.p.	Pozostałe zanieczyszczenia	Grupa A	Grupa B				Grupa C			
			głębokość (w metrach pod poziomem terenu)							
			0-0,3	0,3-15		>15		0-2	2-15	
			wodoprzepuszczalność gruntu (10^{-7} m/s)							
	do	poniżej	do	poniżej		do	poniżej			
1	Terahydrofuran	0,1	0,1	1	4	0,25	40	50	2	40
2	Pirydyna	0,1	0,1	0,5	2	0,25	20	30	1	20
3	Tetrahydrotiofen	0,1	0,1	1	5	0,005	50	60	2	50
4	Cykloheksan	0,1	0,1	1	6	0,01	60	80	5	80
5	Fenol	0,05	0,1	0,5	20	0,025	40	50	3	100
6	Krezole (suma)	0,05	0,1	0,5	20	0,01	40	50	3	100
7	Ftalany (suma)	0,1	0,1	5	60	0,005	60	60	10	60

Użytkowanie gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi i wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA) zależy od stopnia skażenia i od cech gleby. Wg opracowań Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa skażenie gleby metalami ciężkimi czy WWA można przedstawić w pięciostopniowej skali od I do V; glebie naturalnej (nieskażonej) przypisuje się stopień zerowy. **W zależności od stopnia skażenia zalecane jest zróżnicowane użytkowanie gleb, ograniczające niebezpieczeństwo skażenia plonów.** Klasyfikację stopnia skażenia i sposób zagospodarowania przedstawiono w tabelach 14 i 15.

Tabela 14. Wykorzystanie gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi
(próbki gleby z głębokości 0-20cm)

Stopień zanieczyszczenia gleb	Zawartość ołowiu (mg/kg s.m.)	Zawartość kadmu (mg/kg s.m.)	Zalecane użytkowania gleb
0 (zawartość naturalna)	30 – 70	0,3 – 1,0	wszystkie rośliny, zwłaszcza z przeznaczeniem dla niemowląt i dzieci
I (zawartość podwyższona)	70 -100	1 – 3	wszystkie rośliny polowe z wyłączeniem warzyw przeznaczonych dla dzieci
II (słabe zanieczyszczenie)	100 – 500	2 – 5	rośliny okopowe, pastewne, zboża, trawy i pastwiska, warzywa bez kalafiora, sałaty, szpinaku itp.
III (średnie zanieczyszczenie)	500 – 2000	3 – 10	rośliny zbożowe, okopowe i pastewne z obowiązkiem okresowej kontroli w paszach i konsumpcyjnych częściach roślin, rośliny przemysłowe i nasienne
IV (silne zanieczyszczenie)	2500 – 7000	5 – 20	lekke gleby – wyłączone z produkcji rolniczej, na glebach cięższych - rośliny przemysłowe (konopie, len), wiklinę, zboża, trawy na materiał siewny, ziemniaki i zboża na produkcję spirytusu, rzepak na olej techniczny, sadzonki drzew i krzewów
V (bardzo silne zanieczyszczenie)	>2500 - >7000	>5 - >20	wykluczone z produkcji rolniczej i zalesiane, by zapobiec przenoszeniu pyłów

Tabela 15. Wykorzystanie gleb zanieczyszczonych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (próbki gleby z głębokości 0-20 cm)

Zawartość WWA (µg/kg s.m.)	Stopień i ocena zanieczyszczenia	Zalecane użytkowania gleb
< 200	0 (niezanieczyszczone)	wszystkie rośliny, bez obawy zanieczyszczenia ich WWA
200 – 600	1 (o podwyższonej zawartości)	
600 – 1000	2 (mało zanieczyszczone)	wyłączenie roślin przeznaczonych dla dzieci i niemowląt
1000 – 5000	3 (zanieczyszczone)	ograniczenie upraw, wyłączenie warzyw korzeniowych i liściastych
5000 – 10000	4 (silnie zanieczyszczone)	duże ograniczenia upraw, łącznie z trawami na wypas i siano
> 10000	5 (bardzo silnie zanieczyszczone)	wyłączenie z produkcji rolnej

5.1. Metody monitorowania gleb i ziemi

Podstawą oceny stopnia skażenia środowiska glebowego są **badania chemiczne** wykonywane w laboratorium. Są to oznaczenia sumarycznych zawartości występujących zanieczyszczeń jak i **analizy specjacyjne**. Dla oceny zachowania się substancji zanieczyszczających w glebie prowadzi się również **badania jej właściwości wodno-powietrznych, gęstości, porowatości, właściwości sorpcyjnych i kwasowości wymiennej czy hydrolitycznej**. Do oceny stanu zanieczyszczeń gleby i ziemi stosowany jest również **monitoring zdalny oraz bioanalitka i biomonitoring**, których głównymi zaletami jest mały koszt uzyskiwania próbek oraz to, że badania materiału biologicznego dotyczą oznaczania zanieczyszczeń w formie biodostępnej.

5.1.1. Biomonitoring gleb i ziemi

Biomonitoring i bioanalitka gleb i ziemi polegają na obserwacji i badaniach chemicznych organizmów żywych, jak bezkręgowców czy roślin. Bezkręgowce reagują przy niższych stężeniach zanieczyszczeń w glebie i są bardziej czułymi wskaźnikami niż rośliny, zwłaszcza na zanieczyszczenia metalami ciężkimi. Na terenie zanieczyszczonym dany gatunek czy grupa bezkręgowców występuje ze zmniejszoną liczebnością i mniejszymi rozmiarami ciała. Jakość gleby można ocenić np. na podstawie obserwacji **chrząszczy biegaczowatych**. Są to zwierzęta żyjące w glebie, które są dobrym biowskaźnikiem zachodzących w niej procesów. **Im większa masa średnia chrząszcza (tzw. wskaźnik SBO, średnia biomasa osobnicza), tym mniej zdegradowane środowisko.** Znając potrzeby życiowe chrząszczy, można wnioskować o tym, jakie są braki w glebie i jaki przyjąć sposób zagospodarowania terenu. Tego typu badania są szczególnie przydatne w gospodarce leśnej.

Innym przykładem bioindykatora z grupy bezkręgowców są ślimaki. **Wiele gatunków ślimaków ma zdolność bioakumulacji metali.** Obecność i ilość metali w organizmie ślimaka odzwierciedla ilość i ich

biodostępność w środowisku. Ślimaki mogą kumulować metale selektywnie. Niektóre gatunki są „makrokoncentratorami” tylko kadmu i miedzi, zaś „mikrokoncentratorami” cynku i ołowiu.

Wśród roślin bardzo często stosowany jest **mniszek lekarski, jako indykator zanieczyszczenia gleby metalami ciężkimi**. Do badania, oprócz rośliny, wykorzystuje się **ryzosferę** - kilkumilimetrową warstwę ziemi, bezpośrednio przylegającą do korzeni i aktywną biologicznie. Ta warstwa gleby, poddana chemicznym i biochemicznym wpływom korzeni jest miejscem współdziałania rośliny i mikroorganizmów gleby, polegającego na wymianie specyficznych substancji chemicznych. **Pod wpływem metali ciężkich zmienia się aktywność enzymów w ryzosferze, stąd badanie ich aktywności dla oceny zagrożeń środowiskowych**. Niekiedy wyniki testów biochemicznych bardziej odzwierciedlają zmiany spowodowane zanieczyszczeniami niż wyniki badań fizycznych i chemicznych gleby.

Wykorzystanie drzew do oceny zanieczyszczenia gleby metalami ciężkimi, polegające na obserwacji przyrostu słoików pni nosi nazwę **dendroanalizy**. **Ilość słoików dostarcza informacji o wieku drzewa, a zawartość metali w poszczególnych słoikach jest informacją o ich kumulacji w czasie**. Znając zawartość metali w drzewach na określonym terenie, można ustalić zasięg i kierunek rozchodzenia się zanieczyszczeń. Pobieranie próbek do analizy polega na wykonaniu wywiertu do rdzenia drzewa, specjalnie przystosowanym do tego celu, **świdrem Presslera**. Jest to cienka tulejka z nagwintowanym jednym końcem, wykonana ze stali. Wywiert ma kilkumilimetrową średnicę i wykonanie go nie powoduje specjalnych uszczerbków w stanie drzewa.

5.1.2. Zdalny monitoring gleb i ziemi

Wśród sposobów zdalnego monitorowania zanieczyszczenia gleby, bez kontaktu z analizem, znalazły się następujące metody:

- **magnetometria,**
- **metoda elektrooporowa,**
- **teledetekcja.**

Na dużych, nieuprawianych obszarach, narażonych na długą depozycję zanieczyszczeń, np. lasach, szczególnie przydatną jest metoda magnetometryczna – alternatywna w stosunku do drogiej metody geochemicznych. **Magnetometria polega na pomiarach podatności magnetycznej gleb, która jest dość dobrze skorelowana z ilością antropogenicznych zanieczyszczeń, głównie metali ciężkich**. Podatność magnetyczna gleby jest wielkością geofizyczną, opisującą wielkość namagnesowania substancji pod wpływem zewnętrznego pola magnetycznego. Wielkość namagnesowania (M) zależy od natężenia pola magnetycznego (H):

$$M = \chi H \quad (1)$$

gdzie:

χ – jest współczynnikiem proporcjonalności zwanym podatnością magnetyczną.

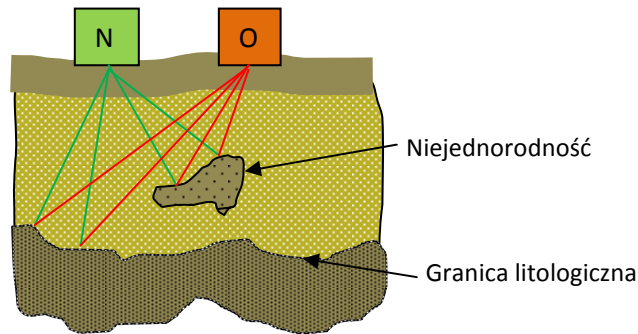
Podatność magnetyczna jest cechą właściwą danej substancji i w układzie SI jest jednostką niemianowaną. W zależności od jednostek opisujących ilość namagnesowywanej materii (jednostki masy, objętości czy ilość moli) współczynnik podatności magnetycznej nazywa się odpowiednio: właściwą podatnością magnetyczną, objętościową podatnością magnetyczną i molową pojemnością magnetyczną. **W odniesieniu do gleby jest to objętościowa podatność magnetyczna**. Wartości

podatności magnetycznej decydują o charakterze substancji. **Dla diamagnetyków wartości podatności magnetycznej są mniejsze od zera. Dla gleb „czystych” wartość podatności magnetycznej χ jest mniejsza od $30 \cdot 10^{-5}$ jednostek SI; wartość wynosząca od $30 - 50 \cdot 10^{-5}$ jednostek SI oznacza, że ilość przynajmniej jednego z metali przekracza wartość dopuszczalną dla gleb terenów leśnych.** Pomiary wykonuje się za pomocą **mierników podatności magnetycznej**, przystosowanych do pomiarów na powierzchni gleby (do 10 cm) lub przystosowanych do pomiarów wewnątrz gleby. Podstawą działania mierników jest zmiana indukcji prądu zmiennego pod wpływem substancji umieszczonej w obrębie działania zmiennego pola magnetycznego, wytworzonego przez prąd. Zmiany te zapisywane są przez miernik i przetwarzane na wartość podatności magnetycznej.

Podstawą **metody elektrooporowej** są różnice w przewodzeniu prądu elektrycznego poszczególnych części ośrodka gruntowego. **Opór elektryczny ośrodka zależy od rodzaju gleby, zawartości wody, zanieczyszczeń i obecności różnych obiektów.** Pomiar polega na włączeniu ośrodka gruntowego w obwód prądu stałego lub zmiennego i odczytu jego parametrów: napięcia i natężenia. Wartości napięcia i natężenia służą do wyliczenia tzw. **oporności pozornej ośrodka, czyli zbiorczej oporności tych warstw gleby, które są w zasięgu pola elektrycznego.** Włączenie ośrodka w obwód prądu odbywa się za pomocą elektrod wprowadzonych do gruntu parami: zasilającej i pomiarowej, połączonych ze źródłem prądu. Od odstępów między elektrodami zależy głębokość zasięgu pola elektrycznego. Do interpretacji wyników pomiarów stosuje się specjalistyczne oprogramowania komputerowe.

Metoda elektrooporowa znalazła zastosowanie w monitoringu środowiska, jako sposób badania zmian rozkładu zanieczyszczeń w czasie i przestrzeni oraz do wykrywania występowania zanieczyszczeń już istniejących lub potencjalnych (wokół oczyszczalni ścieków, składowisk odpadów, zbiorników paliw, mogiłników, itp.). **Metoda elektrooporowa jest szczególnie użyteczna w monitorowaniu dobrze przewodzących skażeń, jak zanieczyszczona woda lub zanieczyszczenia metalami ciężkimi.**

W **teledetekcji** gleby stosowane są **georadary i skanery wielospektralne.** **Georadar** jest to urządzenie pomiarowe nadawczo-odbiorcze, którego zasada działania polega na pomiarze odbitego promieniowania elektromagnetycznego. Promieniowanie odbite dociera do radaru z opóźnieniem, które jest miarą odległości do przeszkody, a rozkład natężenia odbitego promieniowania odzwierciedla kształt i inne cechy przeszkody. W georadarze stosuje się promieniowanie elektromagnetyczne o wysokiej częstotliwości, od 10 MHz do 5 GHz wysyłane impulsowo, o długości impulsu półtora okresu. Szybkość rozchodzenia się fali w badanym środowisku zależy od jego właściwości elektromagnetycznych, wyrażanych przez współczynnik przenikalności. **Do wykrywania za pomocą georadaru dużych obiektów stosuje się promieniowanie o niższej częstotliwości (od 10 do 300 MHz).** **Promieniowanie o wysokiej częstotliwości (1-5 GHz) stosuje się dla uzyskania bardzo szczegółowych obrazów.** Georadary wykorzystuje się do wykrywania wycieków, zanieczyszczeń substancjami ropopochodnymi, wykrywanie mogiłników i innych starych miejsc składowania odpadów. Zasadę działania georadaru ilustruje rysunek 7.



Rysunek 7. Zasada działania georadaru

Nadajnik N i odbiornik O umieszczone są na powierzchni badanego terenu w pewnej odległości od siebie (sygnał rozchodzi się w postaci stożka). Promieniowanie odbija się od przeszkody (granica litologiczna, kamień, pustka, rura lub inna niejednorodność) i dociera do radaru z opóźnieniem w stosunku do wysłanego sygnału. Opóźnienie jest miarą odległości do przeszkody, a rozkład natężenia odbitego promieniowania, wynikający z dyfrakcji fali na przeszkodzie, odzwierciedla kształt i inne jej cechy.

W stosowanej do badania gleby i ziemi technice satelitarnej wykorzystywane są **skanery wielospektralne**. Składają się z kilku detektorów, umożliwiających odbiór w tym samym czasie promieniowania o różnej długości fali, z zakresu widzialnego i podczerwonego. Uzyskiwanie danych w tym samym czasie eliminuje wpływ warunków pomiaru (atmosferycznych), a różnice w obrazie uzyskiwanym z różnych detektorów wynikają z właściwości fizyko-chemicznych badanego obiektu. Skanery wielospektralne mogą również rejestrować sygnały z dwóch kierunków, wprzód i wstecz, dzięki czemu dają obraz stereoskopowy. Informację o stanie badanych elementów środowiska powstają w wyniku szczegółowej analizy danych o wielkości promieniowania w stosowanych zakresach długości fal.

6. Podstawy prawne regulujące systemy monitorowania zagrożeń środowiska

Sposób badania, oceny i działań naprawczych jakości środowiska określają akty prawne - ustawy i wynikające z nich akty wykonawcze, które m. in. zawierają wykazy substancji zagrażających środowisku naturalnemu i dopuszczalne stężenia w poszczególnych jego elementach. Ochronę środowiska przed zanieczyszczeniem regulują i dostosowują do ustawodawstwa Unii Europejskiej ustawy takie, jak:

- a) z dnia 27 kwietnia 2001 r. – **Prawo Ochrony Środowiska** (Dz. U. Nr 25, poz. 150 z późniejszymi zmianami, ostatnia z dnia 20 listopada 2009 r., Dz. U. Nr 215 poz. 1664),
- b) z dnia 18 lipca 2001 r. – **Prawo Wodne** (Dz. U. z 2005 r. Nr 239, poz. 2019 z późniejszymi zmianami),
- c) z dnia 27 kwietnia 2001 r. o odpadach (Dz. U. z 2007 r. Nr 39, poz. 251 ze zmianami),
- d) z dnia 11 maja 2001 r. o **opakowaniach i odpadach opakowaniowych** (Dz. U. Nr 63 poz. 638 z późniejszymi zmianami),
- e) z dnia 11 maja 2001 r. o obowiązkach przedsiębiorców w zakresie **gospodarowania**

- niektórymi odpadami** oraz o opłacie produktowej i opłacie (Dz. U. z 2007 r. Nr 90 poz. 607),
- f) z dnia 16.kwietnia 2004 r. o **ochronie przyrody** (Dz. U. Nr 92, poz. 880),
- g) z dnia 20 kwietnia 2004 r. o **substancjach zubożających warstwę ozonową** (Dz. U. Nr 121, poz. 1263),
- h) z dnia 30 lipca 2004 r. o **międzynarodowym obrocie odpadami** (Dz. U. Nr 191, poz. 1956),
- i) z dnia 22 grudnia 2004 r. o **handlu uprawnieniami do emisji do powietrza gazów cieplarnianych i innych substancji** (Dz. U. Nr 281, poz. 2784),
- j) z dnia 29 czerwca 2007 r. o zmianie ustawy o **recyklingu pojazdów** wycofanych z eksploatacji (Dz. U. Nr 176, poz. 1236).

Szczegółowymi aktami wykonawczymi są Rozporządzenia Ministra Środowiska, jak np.:

- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **27 września 2001** r. w sprawie **katalogu odpadów** (Dz. U. Nr 112 poz.1206),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **6 czerwca 2002** r. w sprawie dopuszczalnych poziomów niektórych **substancji w powietrzu**, alarmowych poziomów niektórych substancji w powietrzu oraz marginesów tolerancji dla dopuszczalnych poziomów niektórych substancji (Dz. U. Nr 87, poz.796),
- Rozporządzenie Ministra Infrastruktury z dnia **20 lipca 2002** r. w sprawie sposobu realizacji obowiązków dostawców **ścieków przemysłowych** oraz warunków wprowadzania ścieków do urządzeń kanalizacyjnych (Dz. U. Nr 129, poz. 1108, zmiany: Dz.U. z 2003 r. Nr 163, poz. 1585),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **1 sierpnia 2002** r. w sprawie **komunalnych osadów ściekowych** (Dz. U. Nr 134, poz. 1140, sprostowanie Dz. U. Nr 155, poz. 1299),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **9 września 2002** r. w sprawie **standardów jakości gleby** oraz **standardów jakości ziemi** (Dz. U. Nr 165, poz. 1359).
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **4 października 2002** r. w sprawie wymagań, jakim powinny odpowiadać **wody śródlądowe będące środowiskiem życia ryb** w warunkach naturalnych, w sprawie wymagań, jakim powinny odpowiadać **morskie wody wewnętrzne i wody przybrzeżne będące środowiskiem życia skorupiaków i mięczaków** (Dz. U. Nr 176, poz. 1455),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **27 listopada 2002** r. w sprawie wymagań, jakim powinny odpowiadać **wody powierzchniowe** wykorzystywane **do zaopatrzenia ludności** w wodę przeznaczoną do spożycia (Dz. U. Nr 204, poz.1728),
- Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia **23 grudnia 2002** r.:
 - w sprawie kryteriów wyznaczania wód wrażliwych na zanieczyszczenie **związkami azotu** ze źródeł rolniczych (Dz. U. Nr 241, poz. 2093),
 - w sprawie szczegółowych wymagań, jakim powinny odpowiadać programy działań mających na celu ograniczenia **odpływu azotu ze źródeł rolniczych** (Dz. U. Nr 4, poz. 44),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **4 sierpnia 2003** r. w sprawie standardów **emisyjnych z instalacji** (Dz. U. Nr 163, poz. 1584),

- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **30 października 2003** r. w sprawie dopuszczalnych **poziomów pól elektromagnetycznych** w środowisku oraz sposobów sprawdzania dotrzymania tych poziomów (Dz. U. Nr 192, poz. 1883),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **30 października 2003** r. w sprawie dopuszczalnych **poziomów pól elektromagnetycznych** w środowisku oraz sposobów sprawdzania dotrzymania tych poziomów (Dz. U. Nr 192, poz. 1883),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **11 lutego 2004** r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania **stanu wód powierzchniowych i podziemnych**, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód (Dz. U. Nr 32, poz. 284),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **8 lipca 2004** r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy **wprowadzaniu ścieków** do wód lub do ziemi oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (Dz. U. Nr 168, poz. 1763),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **27 lipca 2004** r. w sprawie dopuszczalnych mas substancji, które mogą być odprowadzane w **ściekach przemysłowych** (Dz. U. Nr 180, poz. 1867),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **2 lipca 2006** r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu **ścieków** do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (Dz. U. Nr 137, poz. 984),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **14 grudnia 2006** r. w sprawie dróg, linii kolejowych i lotnisk, których eksploatacja może powodować negatywne oddziaływanie akustyczne na znacznych obszarach, dla których jest wymagane sporządzanie map akustycznych oraz sposobu określania granic terenów objętych tymi mapami (Dz. U. z 2007 Nr 1, poz. 8),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **14 czerwca 2007** r. w sprawie dopuszczalnych poziomów **hałasu** w środowisku (Dz. U. Nr 120, poz. 826),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **12 listopada 2007** r. w sprawie zakresu i sposobu prowadzenia okresowych badań poziomów **pól elektromagnetycznych** w środowisku (Dz. U. Nr 221, poz. 1645),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **6 marca 2008** r. w sprawie **stref**, w których dokonuje się **oceny jakości powietrza** (Dz. U. Nr 52, poz. 310),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **25 kwietnia 2008** r. w sprawie szczegółowych wymagań dotyczących rejestru zawierającego informacje o **stanie akustycznym środowiska** (Dz. U. Nr 82, poz. 500),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **3 czerwca 2008** r. w sprawie poziomów niektórych **substancji w powietrzu** (Dz. U. Nr 47, poz. 281),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **23 lipca 2008** r. w sprawie kryteriów i sposobu **oceny stanu wód podziemnych** (Dz. U. Nr 143, poz. 896),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **20 sierpnia 2008** r. w sprawie sposobu

klasyfikacji **stanu jednolitych części wód** (Dz. U. Nr 162, poz.1008),

- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **17 grudnia 2008** r. w sprawie dokonywania **ocen poziomów substancji w powietrzu** (Dz. U. Nr 5, poz. 31),
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia **13 maja 2009** r. w sprawie form i sposobu prowadzenia **monitoringu jednolitych części wód powierzchniowych i podziemnych** (Dz. U. Nr 81, poz. 685),
- Art.83 ust.3. ustawy Prawo ochrony środowiska. **Minister** właściwy do spraw środowiska, w porozumieniu z ministrem właściwym do spraw zdrowia **może określić, w drodze rozporządzenia, standardy jakości zapachowej powietrza i metody oceny zapachowej jakości powietrza.**

7. Literatura

1. Dojlido, J. (red.) *Fizyko-chemiczne badanie wody i ścieków*; Wydawnictwo "Arkady": Warszawa, 1999.
2. Falkowska, L.; Lewandowska, A. *Aerozole i gazy w atmosferze ziemskiej – zmiany globalne*; Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego: Gdańsk, 2009.
3. Falkowska, L.; Lewandowska, A. *Aerozole i gazy w atmosferze ziemskiej Przewodnik metodyczny do ćwiczeń*; Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego: Gdańsk, 2009.
4. Jones, A.; Duck, R.; Reed, R.; Weyers, J. *Nauki o środowisku. Ćwiczenia praktyczne*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2002.
5. Namieśnik, J.; Jamrógiewicz, Z.; Pilarczyk, M.; Torres, L. *Przygotowanie próbek środowiskowych do analizy*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2000.
6. Namieśnik, J.; Jamrógiewicz, Z. (red.) *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1998.
7. Bielińska, E. *J. Res. A. Agric. Eng.* **2007**, 3, 52.
8. Bielińska, E. J.; Domża, H. *Acta Agrophysica. Rozprawy i Monografie* **2007**, 2, 5-9.
9. Czerniak, A.; Poszyler-Adamska, A. *Infrastruktura i ekologia terenów wiejskich* **2009**, 5, 7–18.
10. Garczyńska, M.; Mazur, A.; Kostecka, J. *Zeszyty Naukowe, Polskie Towarzystwo Gleboznawcze; Oddział w Rzeszowie* **2009**, 11.
11. Kłós, A. *CHEMIA · DYDAKTYKA · EKOLOGIA · METROLOGIA* **2007**, R. 12, NR 1-2.
12. Matczak, W.; Gromiec, J. *Medycyna Pracy* **2001**, 52, 423-436.
13. Zawadzki, J.; Magiera, T.; Strzyszczyński, Z. *Archiwum Ochrony Środowiska* **2004**, 30, 71-82.
14. Auriga, L.; Otremba, Z. Techniki „remote sensing” w wykrywaniu skażeń chemicznych morza, IV Sympozjum „Bezpieczeństwo życia na morzu i ochrona środowiska naturalnego”, Kołobrzeg, 8-10 czerwca 2000; kepler.am.gdynia.pl/~zot/Kolobrzeg2000.pdf
15. Czerniak, A.; Kayzer, D.; Poszyler-Adamska, A. Nowe metody oceny zasięgu migracji poziomej i pionowej pierwiastków śladowych w glebie przydrożnej, konferencja.21.edu.pl/publikacje/2010/7/4.03_POSZYLER.pdf
16. Drożdż-Gaj, D. Biomarkery stresu powodowanego metalami ciężkimi i pestycydem (Metiokarb) wybranych narządów ślimaków lądowych, Praca doktorska, Katowice 2007, www.sbc.org.pl/Content/7033
17. Kmiecik, E. Ocena stanu chemicznego wód podziemnych w oparciu o wyniki badań monitoringowych; Krakow 2009; http://home.agh.edu.pl/~ek/b/ocena_stanu.pdf

18. Pomianowski P., Rogowski R., Rudzki M., Zastosowanie badań i pomiarów geofizycznych w ochronie elektrochemicznej, VII Krajowa „Konferencja Pomiary korozyjne w ochronie elektrochemicznej”, Jurata, 18-20.09.2002, www.corrpol.pl/pkeopk-sep/jurata2002/Pomianowski.pdf
19. Pomierny S., Ocena wybranych wskaźników ekologicznych w świeżych borach sosnowych zlokalizowanych wokół „Huty Katowice”; Praca doktorska, Katowice, 2007, www.dart-europe.eu/full.php?id=258185
20. home.agh.edu.pl/~kca/zte-wyk-nas.pdf
21. www.fuw.edu.pl/~zopt/Lidar/intro.html
22. neo.dmcs.p.lodz.pl/mikromaszyny/03_czujniki_chemiczne.pdf
23. sound.eti.pg.gda.pl/student/med/biosensory.pdf
24. telego.wgsr.uw.edu.pl/files/Prof_Oledzki_Wyklad10_SPOT.pdf
25. www.gdansk.pl/plik,25161.html
26. www.gprsystem.pl/index.php?metodaelektrooporowa,84
27. www.hach-lange.pl/.../DOC030_60_00387_Jun06_part1.pdf
28. www.infocorp.com.pl/publikacje/Pub_zarz_monitoring.pdf
29. www.infocorp.com.pl/publikacje/Szczecin_2_2006.pdf
30. www.pentol.com.pl/.../Pentol_System_ciaglego_monitoringu_emisji_inf_tech_08_2008%20MF%2020080901.pdf
31. www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/.../rozdzial_001.pdf
32. www.sperian.com/Supplementary/Documents_and.../Best.../1033.aspx
33. www.straz.bialystok.pl/pl/index.php?option=com

III. Zanieczyszczenia środowiska naturalnego, źródła i charakterystyka

1. Powietrze atmosferyczne

Atmosfera ziemską – gazowa powłoka otaczająca Ziemię – chroni nasze życie przed szkodliwym promieniowaniem z kosmosu, kształtuje pogodę i klimat oraz jest zbiornikiem substancji chemicznych niezbędnych dla życia – tlenu, azotu, ditlenku węgla i pary wodnej.

Atmosferę ziemską podzielono na warstwy wg zmieniającej się temperatury:

- **troposferę**, 0 ÷ (10-16) km, +15 ÷ -56° C,
- **stratosferę**, (10-16) ÷ 50 km, -56 ÷ -2° C,
- **mezosferę**, 50 ÷ 85 km, -2 ÷ -92° C,
- **termosferę**, 85 ÷ 500 km, - 92 ÷ +1200° C.

Granica między troposferą a stratosferą zmienia się w przedziale 10 ÷ 16 km. Według kryterium składu atmosferę podzielono na:

- **egzosferę**, powyżej 500 km, charakteryzującą się ucieczką najszybszych molekuł gazów atmosferycznych wodoru i helu,
- **jonosferę**, powyżej 80 km, charakteryzującą się znacznym stopniem jonizacji (O_2^+ , O^+ , NO^+),
- **ozonosferę**, 15 ÷ 30 km, charakteryzującą się znacznie podwyższoną zawartością ozonu,
- **troposferę**, 0 ÷ (10-16) km, zawierającą głównie N_2 , O_2 , CO_2 , H_2O – ważne substancje dla procesów zachodzących w biosferze.

Skład chemiczny suchego, niezanieczyszczonego powietrza w przyziemnej warstwie troposfery przedstawiono w tabeli 1.

Powietrze atmosferyczne do wysokości 80 km nad poziom morza ma stały poziom głównych składników, za wyjątkiem pary wodnej. Powyżej 80 km powietrze jest bardziej rozrzedzone. Poza tym, z powodu dysocjacji cząsteczek, jonizacji cząsteczek i atomów oraz reakcji fotochemicznych, zachodzących w wyniku promieniowania słonecznego i kosmicznego, zmienia się jego skład.

Atmosfera, a zwłaszcza jej przyziemna warstwa troposfera, stanowi ośrodek, w którym przebiegają najważniejsze życiowe procesy organizmów.

Powietrze atmosferyczne jest wykorzystywane, jako surowiec w wielu procesach produkcyjnych, poza tym, jako medium przenoszące ciepło lub masę, stosowane jest w procesach ogrzewania, chłodzenia, suszenia czy nawilżania. Sprężone powietrze jest używane do poruszania maszyn pneumatycznych. Niestety, powietrze atmosferyczne wykorzystywane jest też, bardziej lub mniej świadomie, jako odbiornik gazowych czy aerozolowych produktów odpadowych życia i działalności gospodarczej człowieka.

Tabela 1. Skład suchego powietrza atmosferycznego przy powierzchni gruntu

Składniki	Średnia zawartość, % objętościowy
N ₂	78,08
O ₂	20,95
Ar	0,934
CO ₂	0,034
Ne	$1,818 \cdot 10^{-3}$
He	$5,24 \cdot 10^{-4}$
Kr	$1,14 \cdot 10^{-4}$
Xe	$8,7 \cdot 10^{-6}$
CH ₄	$1,6 \cdot 10^{-4}$
CO	$\sim 1,2 \cdot 10^{-5}$
N ₂ O	$3 \cdot 10^{-5}$
NO _x (NO + NO ₂)	$10^{-10} - 10^{-6}$
HNO ₃	$10^{-9} - 10^{-7}$
NH ₃	$10^{-8} - 10^{-7}$
H ₂	$5 \cdot 10^{-5}$
H ₂ O ₂	$10^{-8} - 10^{-6}$
HO·	$10^{-13} - 10^{-10}$
HO ₂ ·	$10^{-11} - 10^{-9}$
H ₂ CO	$10^{-8} - 10^{-7}$
CS ₂	$10^{-9} - 10^{-8}$
COS	10^{-8}
SO ₂	$\sim 2 \cdot 10^{-8}$
I ₂	0 - ślady
CCl ₂ F ₂	$2,8 \cdot 10^{-5}$
C ₂ H ₃ Cl ₃	$\sim 1 \cdot 10^{-8}$

Ochrona powietrza atmosferycznego przed zanieczyszczeniami stwarza szczególne problemy: po pierwsze, z powodu ogromnej dynamiki atmosfery, stanowiącej główną drogę rozprzestrzeniania zanieczyszczeń i wymiany pomiędzy pozostałymi elementami środowiska; po drugie, z powodu powszechności narażenia populacji ludzkiej, fauny i flory wynikającej z braku możliwości odcięcia się od skażeń, co jest możliwe w przypadku skażonej gleby czy wód.

Naruszanie składu chemicznego atmosfery poprzez zmianę średnich zawartości jej składników jak i emisję zanieczyszczeń, w tym również takich substancji, które reagują ze stałymi składnikami atmosfery powoduje liczne i poważne konsekwencje dla biosfery.

Za zanieczyszczenia powietrza przyjmuje się wszystkie substancje niebędące jego naturalnymi składnikami. Zanieczyszczenia to najczęściej gazy oraz ciecze (w postaci aerozolu) i ciała stałe (w postaci pyłu). Za zanieczyszczenia przyjmuje się też składniki stale występujące w powietrzu, jeśli są w ilościach zdecydowanie przekraczających naturalny jego skład.

Spośród tysięcy substancji zanieczyszczających powietrze atmosferyczne pewna ich liczba jest emitowana przez większość źródeł antropogenicznych i zanieczyszczenia te traktowane są, jako **zanieczyszczenia charakterystyczne**. Należą do nich:

- **zanieczyszczenia gazowe, czyli gazy i pary związków chemicznych** (LZO, lotne związki organiczne), np. tlenki węgla (CO i CO_2), siarki (SO_2 i SO_3) i azotu (NO_x), amoniak, fluor, węglowodory łańcuchowe i aromatyczne i ich chlorowcopochodne, fenole oraz tzw. utleniacze, które są zanieczyszczeniami wtórnymi, powstałymi w wyniku reakcji fotochemicznych, rodnikowych, i katalitycznych substancji zanieczyszczających powietrze (ozon, NO_2 , formaldehyd, akroleina i nadtlenki organiczne),
- **ciała stałe, czyli cząstki nieorganiczne i organiczne (pyły)** o różnorodnej wielkości ziaren i różnym składzie chemicznym, np. popiół lotny, sadza, pyły z produkcji cementu, pyły metalurgiczne, związki ołowiu, miedzi, chromu, kadmu i innych metali ciężkich,
- **ciecze w postaci kropelek**, np. kwasów, zasad i rozpuszczalników,
- **zanieczyszczenia biologiczne**, czyli mikroorganizmy - wirusy, bakterie i grzyby, których rodzaj i ilość odbiega od składu naturalnej mikroflory powietrza.

1.1. Źródła zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego

Zanieczyszczenia w powietrzu mogą pochodzić ze **źródeł naturalnych** i antropogenicznych. **Naturalnymi źródłami tlenków węgla są procesy oddychania organizmów żywych, wulkany, gejzery, bagna, pożary lasów, stepów i sawann.** Wulkany i bagna wydzielają również tlenki siarki, azotu, siarkowodór, amoniak, metan i inne. Źródłem pyłów o różnym składzie chemicznym są popioły wulkaniczne, pożary, burze piaskowe, gleby i skały ulegające erozji. Z terenów zielonych dostają się do atmosfery pyły organiczne, np. pyłki roślinne.

W wyniku działalności człowieka powstają zanieczyszczenia, których ilość i jakość bardzo często przekracza możliwości ich utylizacji przez środowisko naturalne. Prowadzi to do zachwiania stanu równowagi biosfery, czego skutki nie zawsze są przewidywalne. **Antropogeniczne źródła zanieczyszczeń** można podzielić na 4 podstawowe grupy:

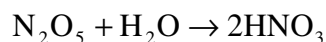
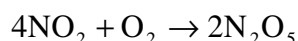
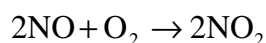
- **energetyczne**, na które składają się procesy wydobywania (kopalnie, szyby wiertnicze) i spalania paliw,
- **przemysłowe**, obejmujące przemysł ciężki (przeróbka ropy naftowej, hutnictwo, cementownie, przemysł chemii organicznej), produkcja i stosowanie rozpuszczalników, przemysł spożywczy, przemysł farmaceutyczny i inne,

- **komunikacyjne** - transport drogowy (głównie samochodowy), powietrzny i wodny,
- **komunalne** - gospodarstwa rolne, domowe, gromadzenie i utylizacja odpadów stałych i ścieków (wysypiska, oczyszczalnie).

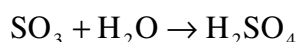
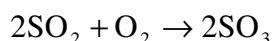
Ze względu na sposób rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń, źródła można podzielić na **punktowe** (komin), **liniowe** (ciągi komunikacyjne, kanały ściekowe) i **powierzchniowe** (zbiór otwartych zbiorników lub dzielnic mieszkaniowa z małymi kominami na dachach). W instalacjach przemysłowych mamy do czynienia z trójwymiarowym źródłem emisji - **emiterami objętościowymi**. Każdy emiter charakteryzują parametry techniczne, decydujące o rozprzestrzenianiu się zanieczyszczeń, z których najważniejsze to: **wielkość emisji (ilość substancji wyemitowanej w jednostce czasu)** oraz **rodzaj emitowanych zanieczyszczeń**.

Poza technicznymi parametrami emiterów na rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń mają wpływ warunki meteorologiczne: temperatura powietrza, kierunek i prędkość wiatru oraz opady atmosferyczne.

Zanieczyszczenia, które dostają się do powietrza i pozostają w nim niezmienione nazywają się **zanieczyszczeniami pierwotnymi**. Niestety, między składnikami atmosfery a zanieczyszczeniami zachodzą reakcje chemiczne i procesy fizyczne, w których wyniku powstają **wtórne zanieczyszczenia**, często groźniejsze od pierwotnych. Na przykład: bezwonny i bezbarwny tlenek azotu czy brunatny, duszący ditlenek azotu mogą utleniać się do pięciotlenku azotu, a ten w obecności pary wodnej tworzy kwas azotowy:



Ditlenek siarki powstaje w wyniku spalania paliw zanieczyszczonych siarką. Jest bezbarwnym i silnie toksycznym, duszącym gazem utrzymującym się w powietrzu przez 2-3 dni. W tym czasie utlenia się do trójtlenku a następnie reaguje z parą wodną, tworząc kwas siarkowy:



Kwas siarkowy i azotowy są składnikami kwaśnych deszczy.

Zanieczyszczenia pierwotne emitowane przez duże miasta czy obszary przemysłowe, przy bezwietrznej pogodzie lub w warunkach inwersji temperatury tworzą tzw. **smog**. Ze względu na warunki atmosferyczne, te same zanieczyszczenia pierwotne mogą tworzyć różne mieszaniny. Rozróżnia się **smog fotochemiczny i smog kwaśny**.

Zanieczyszczenia takie, jak tlenki azotu, węglowodory (zwłaszcza alkeny) i inne składniki spalin w czasie silnego nasłonecznienia ulegają przemianom do rodników. Rodniki są bardzo reaktywne i tworzą wiele toksycznych związków. **Najgroźniejsze z nich to nadtlenki a także ozon, czad, tlenki azotu, aldehydy i węglowodory aromatyczne - związki te tworzą smog fotochemiczny (zwany też utleniającym).**

W wilgotnym, silnie zanieczyszczonym powietrzu, zwłaszcza tlenkami siarki, węgla oraz pyłem węglowym tworzy się smog kwaśny. Kwasy są nie tylko bezpośrednim zagrożeniem dla ludzi, zwierząt czy

roślin, również wpływają na zakwaszenie gleb i wód. Poza tym, agresywne czynniki smogu kwaśnego powodują niszczenie materiałów budowlanych i innych.

Wtórnymi skutkami zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego są **efekt cieplarniany i dziura ozonowa**. Efekt cieplarniany to wzrost średniej temperatury przy powierzchni Ziemi. Temperatura ta zależy od składu atmosfery. Zanieczyszczenia gazowe i pyły zatrzymują część promieniowania wysyłanego przez powierzchnię Ziemi, co zakłóca równowagę między promieniowaniem słonecznym pochłanianym a promieniowaniem emitowanym przez Ziemię. Wzrost średniej temperatury niesie za sobą poważne skutki klimatyczne, takie jak susze czy gwałtowne opady deszczu. **Gazami odpowiedzialnymi za efekt cieplarniany (tzw. gazami cieplarnianymi) są dwutlenek węgla, metan, tlenek azotu, ozon i freony.**

Freony są także źródłem chloru, który niszczy ozon. Freony są to związki fluoru i chloru, które w normalnych warunkach są nieaktywne chemicznie. Jednak, gdy przedostaną się do stratosfery, pod wpływem promieniowania ultrafioletowego rozkładają się, wydzielając chlor. Chlor niszczy ozonosferę, chroniąc nas przed nadmiernym promieniowaniem ultrafioletowym docierającym ze Słońca.

1.2. Lotne zanieczyszczenia organiczne, LZO

Istotną frakcją zanieczyszczeń gazowych na obszarach zurbanizowanych, pochodzącą z gazów spalinowych, odparowania produktów naftowych i stosowania rozpuszczalników organicznych, są **lotne związki organiczne (LZO)** (ang. *Volatile Organic Compounds*, VOC). Definicje LZO oparte są na określeniu prężności par lub temperaturze wrzenia:

- LZO to grupa związków organicznych, które z łatwością przechodzą w postać pary lub gazu, charakteryzują się wysoką prężnością par i niską rozpuszczalnością w wodzie, a ich temperatura wrzenia mieści się w zakresie: 50-250°C (przy ciśnieniu atmosferycznym),
- wg Programu Europejskiego Monitoringu Środowiska przyjmuje się, że LZO to pary substancji organicznych, które w warunkach normalnych są cieczami lub ciałami stałymi,
- wg Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (EPA) LZO to związki organiczne, które przy ciśnieniu niższym od 0,1013 kPa występują w postaci pary i wyklucza te związki, które są w tych warunkach gazami. Do LZO nie zalicza się fenoli, glikoli i związków aromatycznych o większej niż 10 liczbie atomów węgla w cząsteczce,
- w Dyrektywie Komisji Europejskiej (KE) przyjęto, że lotny związek organiczny (VOC) oznacza dowolny związek organiczny mający temperaturę wrzenia niższą lub równą 250°C, zmierzoną pod ciśnieniem standardowym wynoszącym 101,3 kPa,
- w protokole konwencji genewskiej o Transgranicznym Zanieczyszczeniu Powietrza na Dalekie Odległości, LZO to wszystkie związki pochodzenia antropogenicznego, za wyjątkiem metanu, które wykazują zdolność do wytwarzania fotochemicznych utleniaczy poprzez reakcje z tlenkami azotu i pod wpływem promieniowania słonecznego, takich jak ozon, nadtlenuk wodoru i azotan nadtlenu wodoru,
- rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 4 sierpnia 2003 roku w sprawie standardów emisyjnych instalacji (Dz. U. 2003 Nr 163, poz. 1584) definiuje LZO jako związki organiczne mające w temperaturze 293,15 K prężność par nie mniejszą niż 0,01 kPa, względnie posiadające analogiczną lotność w szczególnych warunkach użytkowania; w grupie LZO szczególne miejsce zajmuje metan, którego zawartość w atmosferze jest o 3 rzędy wielkości wyższa niż pozostałe LZO, z tego powodu często wyróżnia się pozametanową frakcję

zanieczyszczeń jako **niemetanowe lotne związki organiczne (NMLZO)**,

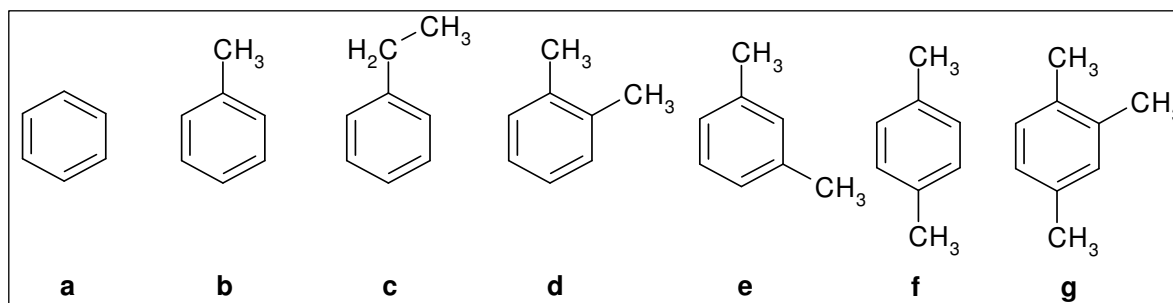
- wg rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 16 stycznia 2007 roku w sprawie szczegółowych wymagań dotyczących ograniczenia emisji lotnych związków organicznych (wykorzystywanie farb, lakierów, preparatów odnawiania pojazdów i rozpuszczalników) LZO to związki organiczne o **początkowej** temperaturze wrzenia mniejszej lub równej 250 °C, mierzonej warunkach ciśnienia normalnego 101,3 kPa (w załączniku do rozporządzenia podane są dopuszczalne wielkości maksymalnej zawartości LZO w farbach i lakierach, obowiązujące od 1 stycznia 2009).

LZO to wiele grup związków chemicznych, z których najliczniej reprezentowane są:

- a) **węglowodory alifatyczne** (alkany, alkeny, alkiny, np. etan, etylen, acetylen, izobutan),
- b) **węglowodory pierścieniowe** (cykloalkany),
- c) **węglowodory aromatyczne** (np. BTEX czyli benzen, toluen, etylobenzen i ksyleny),
- d) **węglowodory halogenowe** (chloro-, bromo-, jodopochodne, np. chlorometan, trichloroetan),
- a) **węglowodory nitrowane** (np. nitrobenzen),
- b) **alkohole i fenole** (metanol, etanol, propanol, butanole, fenol, krezole),
- c) **karbonylowe pochodne** (np. formaldehyd, acetaldehyd, akroleina, aceton),
- d) **kwasy karboksylowe i estry** (np. kwas mrówkowy, octowy, masłowy, octan etylu, maślan metylu),
- e) **heterocykliczne związki organiczne** zawierające m.in. azot, tlen, siarkę (np. indol, skatol, pirydyna); większość z nich to tzw. odory,
- f) **alifatyczne związki siarki**, np. merkaptany (zaliczane do odorów),
- g) **aminy alifatyczne**, jak trietyloamina (odory),
- h) **aminy aromatyczne**, np. anilina.

LZO biorą udział w wielu reakcjach fotochemicznych, w których powstają szkodliwe, a nawet toksyczne produkty. LZO mogą także wywoływać poważne skutki zdrowotne, gdyż wiele z nich wykazuje właściwości **toksyczne, kancerogenne, mutagenne lub neurotoksyczne**. Ponadto, wiele z nich ma charakter odorów przyczyniających się do pogorszenia warunków bytowania ludzi.

W grupie LZO szczególne miejsce zajmują **jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne (JWA)**. Są to benzen i jego alkilowe pochodne, takie jak toluen, o, m, p-ksylen, etylobenzen, 1,2,4- oraz 1,3,5-trimetylobenzen (rysunek 1), oznaczane skrótem **BTEX**. Ich najwyższe stężenia obserwuje się w obrębie tras komunikacyjnych, i tam mogą stwarzać zagrożenie z uwagi na dużą toksyczność niektórych z wymienionych związków oraz niejednokrotnie ich wysoką reaktywność fotochemiczną. **Do związków szczególnie toksycznych należy benzen. To najprostszy węglowodór aromatyczny, lotny, wonny, palny, lżejszy od wody i nierozpuszczający się w niej. Wykazuje on działanie kancerogenne, mutagenne, teratogenne i embriotoksyczne.**



Rysunek 1. Struktury chemiczne wybranych jednopierścieniowych węglowodorów aromatycznych: a - benzen, b – toluen, c – etylobenzen, d – o-ksylen, e – m-ksylen, f – p-ksylen, g – 1,2,4-trimetylobenzen

Benzen naturalnie występuje w ropie naftowej do poziomu 4 g/L, poza tym w smołach węglowych. Całkowita produkcja benzenu w UE jest szacowana na około 7 milionów ton rocznie. Główne zastosowanie benzenu to produkcja trzech pochodnych: etylobenzenu, cykloheksanu i kumenu. Benzen stanowi podstawę do produkcji związków cykloalifatycznych i aromatycznych, a dalej substancje te są wykorzystywane do produkcji tworzyw sztucznych, kauczuku syntetycznego, surowca dla barwników, żywic, detergentów i środków ochrony roślin. W przeliczeniu na czysty benzen: 52 % - stosuje się w produkcji etylobenzenu, styrenu i polistyrenu, w budownictwie i opakowaniach, 20 % - stosuje się w produkcji fenolu metodą kumenową, fenol zaś, jako surowiec w produkcji tworzyw sztucznych, 12 % - stosuje się, jako surowiec w produkcji cykloheksanolu i cykloheksanonu a następnie kaprolaktamu – surowca do produkcji włókien poliamidowych i poliamidowych tworzyw termoplastycznych, 9 % - nitrobenzen, produkuje się z czystego benzenu do produkcji pianek poliuretanowych i barwników anilinowych. Pozostałe JWA są mniej niebezpieczne w bezpośrednim oddziaływaniu na człowieka. Poszczególne związki zaliczane do LZO mogą dodatkowo oddziaływać na zdrowie człowieka w sposób pośredni, przyczyniając się do tworzenia ozonu troposferycznego. Część benzenu w powietrzu atmosferycznym pochodzi z parowania paliw, zarówno podczas ich magazynowania jak i dystrybuowania na stacjach i w bazach paliw. Emisja tych związków odbywa się także w procesach technologicznych wykorzystujących rozpuszczalniki organiczne oraz w procesach koksowniczych i petrochemicznych.

Wielkość emisji i rodzaju węglowodorów występujących w spalinach zależy od czynników konstrukcyjnych oraz od składu paliwa. Głównym źródłem JWA są silniki o zapłonie iskrowym (spalające benzynę), udział samochodów o zapłonie samoczynnym w emisji tych węglowodorów jest niewielki. Dodatkowo szacuje się, iż emisja związana z parowaniem paliw stanowi 30-50% całkowitej emisji JWO z pojazdów samochodowych.

1.3. Odory

W inżynierii środowiska termin "odór" jest równoważny z terminem "zapach", mimo że kojarzy się z bardzo nieprzyjemnym wrażeniem węchowym. Powszechnie używany termin - substancje zapachowe w odniesieniu do niepożądanych zanieczyszczeń powietrza budzi jeszcze większe zastrzeżenia. Zaleca się stosowania terminów: **odór i odoranty**; ułatwiają one formułowanie aktów prawnych o ochronie przed niepożądanymi zapachami, które nie zawsze są nieprzyjemne.

Odoranty to wszystkie lotne substancje, mające zdolność pobudzania komórek nerwowych nabłonka węchowego, czego wynikiem powstaje wrażenie przyjemne lub nieprzyjemne.

Najbardziej uciążliwymi źródłami odorantów są:

- **składowiska odpadów komunalnych**, źródła związków azotu (aminy, amoniak, heterocykliczne związki organiczne zawierające azot) i siarki (siarkowodór, tiole, sulfidy, disulfidy, heterocykliczne związki organiczne zawierające siarkę), a także tlenu (niskocząsteczkowe kwasy, alkohole, aldehydy, ketony i estry, powstające w procesach fermentacji);
- **oczyszczalnie ścieków** (skład i zapach mieszaniny gazów zależy od warunków i jest podobny do składu z wysypisk);
- **hodowla** (typowe produkty biodegradacji biomasy, związki jak wyżej);
- **cukrownie** (produkty rozkładu biomasy);
- **zakłady produkujące kwas fosforowy** (m. in. związki siarki);
- **ruch samochodowy i inne.**

W Polsce problem jakości zapachowej powietrza nie doczekał się do tej pory uregulowań prawnych. Trwają prace nad przygotowaniem rozporządzenia w sprawie standardów jakości zapachowej powietrza i metod jej oceny. Wg najnowszej wersji projektu rozporządzenia Ministra Środowiska proponuje się wykonywać ocenę jakości zapachowej powietrza przez:

- **określenie wielkości emisji substancji zapachowych oraz imisji** na podstawie referencyjnej metodyki modelowania poziomów substancji zapachowych i częstości przekroczeń dopuszczalnego poziomu w powietrzu,
- **terenową ocenę jakości powietrza** na podstawie pomiarów i badań opinii lokalnej społeczności.

Ocena uciążliwości zapachowej w opinii lokalnej społeczności ma polegać na badaniu ankietowym. Kategorie uciążliwości zapachowej "i", punktację poszczególnych ocen i współczynnik wagi uciążliwości zapachowej W_i podano w tabeli 2.

Tabela 2. Kategorie uciążliwości zapachowej

L.p.	Kategoria uciążliwości i	Punkcja 0-5	Współczynnik wagi W_i
1	Brak zapachu	0	0
2	Brak uciążliwości (zapach jest wyczuwalny ale nie jest odczuwany jako uciążliwy)	1	0
3	Mała uciążliwość (zapach jest umiarkowany, jest odczuwany jako uciążliwy ale jest krótkotrwały)	2	25
4	Uciążliwość (zapach jest umiarkowanie silny, lecz jest odczuwany jako uciążliwy, gdyż występuje ciągle lub bardzo często)	3	50
5	Duża uciążliwość (zapach jest silny, jest odczuwany jako bardzo uciążliwy, gdyż jest długotrwały)	4	75
6	Skrajna uciążliwość (zapach jest silny i odczuwany jako bardzo uciążliwy, nawet wtedy, gdy jest to zapach krótkotrwały)	5	100

Na podstawie wyników badań ankietowych można wyliczyć indeks uciążliwości zapachowej powietrza I_k dla tygodnia k wg wzoru:

$$I_k = \left(\sum W_i \cdot N_{ki} \right) / N_k \quad (1)$$

gdzie:

- k - kolejny numer okresu tygodniowego, analizowanego pod względem uciążliwości zapachowej,
- i - punktacja kategorii uciążliwości zapachowej,
- W_i - współczynnik wagi uciążliwości zapachowej,
- N_{ki} - liczba obserwacji zapachu w kategorii " i " w tygodniu k ,
- N_k - liczba wszystkich obserwacji zapachu w tygodniu k .

1.4. Pyły

Nie tylko lotne związki organiczne stanowią o zanieczyszczeniu powietrza. W powietrzu zawieszone są **cząstki stałe**, które mogą wpływać niekorzystnie na zdrowie człowieka. Ich rodzaj, wielkość i skład chemiczny zależy od źródeł emisji. Skondensowane substancje małodotne lub nielotne adsorbują się na cząstkach stałych (pyłach) i unoszą się w powietrzu na równi z zanieczyszczeniami lotnymi. Różni je jednak od związków lotnych trwałość. **Pył zawieszony długo utrzymuje się w atmosferze i może być przenoszony na duże odległości, nie tylko w obrębie jednego państwa.** Na utrzymywanie się i przemieszczanie pyłów w powietrzu jak i przechodzenie pyłu osiadłego w stan zawieszony mają ogromny wpływ warunki pogodowe, takie jak: prędkość wiatru, temperatura i wilgotność.

Wielkości i kształt cząstek emitowanych do powietrza są bardzo zróżnicowane. W zależności od sposobu zachowywania się ich w powietrzu i układzie oddechowym cząstki podzielono na podzakresy wymiarowe:

- **pył opadający** (cząstki bardzo grube o średnicy większej od 10 μm),
- **pył zawieszony.**

W **pyle zawieszonym** wyróżnia się:

- **cząstki grube** o średnicy większej od 2,5 μm a mniejszej lub równej 10 μm (**PM10**, ang. *Particulate matter*),
- **cząstki drobne** o średnicy większej od 0,1 μm a mniejszej lub równej 2,5 μm (**PM2,5**),
- **cząstki bardzo drobne** o średnicy mniejszej lub równej 0,1 μm .

Pod pojęciem średnica należy rozumieć wartość umowną, przyrównującą cząstkę do kuli o takich samych właściwościach aerodynamicznych, co rzeczywista cząstka. Średnica 2,5 μm jest granicą dzielącą pyły drobne od grubych. Badanie frakcji grubych różni się od metod badania frakcji drobnych. Frakcje drobne wolniej się osadzają, mogą przebywać dłużej w stanie zawieszonym, przedostawać się do układu oddechowego jak również różnić się składem chemicznym od frakcji grubych.

Wg zachowania się w układzie oddechowym pyły (UE i USA) dzieli się na:

- a) **frakcję wdychaną**, czyli wszystkie cząstki wdychane przez nos i usta,
- b) **frakcję tchawiczną**, czyli tę część cząstek wdychanych, która wnika poza krtań,
- c) **frakcję respirabilną** (pęcherzykową), czyli frakcję, która wnika aż do bezręskowych dróg oddechowych (pęcherzyków płucnych).

W Polsce pył zawieszony dzieli się na **całkowity i respirabilny**.

Do pomiaru frakcji PM₁₀ i PM_{2,5} wystarczająco dokładne są metody filtracyjno-wagowe. W przypadku pyłów o średnicy mniejszej od 1 mikrometra należy stosować fotometryczny pomiar stężenia masowego pyłu, liczniki optyczne i liczniki kondensacyjne.

Wieloletnie badania imisji zanieczyszczeń o obrębie szlaków komunikacyjnych potwierdzają fakt, że transport drogowy jest istotnym czynnikiem wpływającym na wielkość emisji pyłu PM₁₀. Pojazdy dostarczają cząstki stałe PM₁₀ z:

- **silników** (głównie sadza i zaadsorbowane na niej związki organiczne i nieorganiczne),
- **układów trących hamulców i sprzęgieł** (metale, w tym ciężkie i związki organiczne),
- **ogumienia kół** (guma, związki organiczne i metale),
- **innych części pojazdów**, ulegających zużyciu w trakcie eksploatacji (niewielkie ilości metali),
- **nawierzchni jezdni** ulegającej zużyciu (związki organiczne i nieorganiczne),
- **wzniesanego pyłu** w trakcie ruchu pojazdu (np. ditlenek krzemu).

Wielkość emisji cząstek stałych PM₁₀ zależy od: rodzaju silnika, budowy i rodzaju materiału hamulców i sprzęgieł, materiałów ogumienia, masy pojazdu, prędkości poruszania się, warunków pogodowych i jakości jezdni, przy czym wymienione czynniki są od siebie zależne.

Najpoważniejsze zanieczyszczenia komunikacyjne przenoszone przez pyły to **wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, metale ciężkie, dioksyny** i inne. **Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA)** należą do grupy najpowszechniej występujących, trwałych zanieczyszczeń organicznych. Głównymi źródłami WWA są produkty niepełnego spalania paliw.

WWA nie występują w środowisku w postaci pojedynczych związków – zawsze tworzą mieszaniny wieloskładnikowe. Skład ilościowy i jakościowy tych mieszanin zależy od rodzaju materiału spalanego oraz warunków, w jakich zachodzi proces spalania.

Najistotniejszym ze zdrowotnego punktu widzenia skutkiem oddziaływania WWA na organizm jest zdolność niektórych z nich do wywoływania zmian nowotworowych. Liczne badania dostarczyły dostatecznej ilości danych pozwalających zakwalifikować takie związki, jak: **benzo(a)piren**, dibenzo(a,h)antracen, benzo(a)antracen, benzo(b)fluoranten, czy dibenzo(a,e)piren do substancji rakotwórczych. WWA występują w powietrzu zawsze w postaci stałej na powierzchni cząstek pyłów, mgły lub dymu, co przyspiesza ich mokrą i suchą depozycję. Stężenie tych związków jest odwrotnie proporcjonalne do odległości źródła emisji. Dopuszczalne środowiskowe poziomy benzo(a)pirenu w powietrzu określają **wartości odniesienia** zawarte w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 5 grudnia 2002 roku w sprawie wartości odniesienia dla niektórych substancji w powietrzu (Dz. U. Nr 1., poz. 12 z 2002 r.) i wynoszą one 0,012 µg/m³ dla stężeń 1 godzinnych i 0,001 µg/m³ dla stężeń średniorocznych.

Bardzo groźnymi związkami zaadsorbowanymi na powierzchni pyłów są **nitrowe pochodne WWA** pochodzące ze spalin (silniki Diesla i spalinowe) oraz powstające, w wyniku reakcji chemicznych WWA z tlenkami azotu i zachodzących w fazie gazowej. **Nitrowe pochodne WWA charakteryzują się wielokrotnie wyższą mutagennością i kancerogennością w porównaniu z WWA.**

Inną groźną dla zdrowia grupą związków jest rodzina **dioksyn**, do której zalicza się **polichlorodibenzodioxyny, polichlorodibenzofurany, polichlorowanebifenyle i polichloronaftaleny**. Dioksyny mogą kumulować się w organizmach zwierząt i ludzi wzdłuż powiązań troficznych, gdzie w przypadku zatruc ostrych wywołują uszkodzenia wątroby, śledziony, trzustki i nerek. Uważa się, że mają właściwości rakotwórcze, mutagenne i teratogenne. Szkodliwe działanie dioksyn polega również na zakłóceniu funkcji reprodukcyjnych.

Następną grupą zanieczyszczeń roznoszonych z frakcją pylistą to pierwiastki śladowe, w tym szczególnie groźne **metale ciężkie**. **Pod pojęciem metale ciężkie należy rozumieć pierwiastki o gęstości powyżej**

4,5 g/cm³. Niektóre z nich, jak miedź, cynk, są niezbędne do funkcjonowania organizmów żywych, inne - jak kadm, rtęć czy ołów są zbyt szkodliwe lub ich funkcja biologiczna nie jest jeszcze znana. Natomiast znane są skutki nadmiernego nagromadzenia metali ciężkich w organizmie - powodują wiele chorób, w tym nowotworowych. Na uwagę zasługuje rtęć uważana za jedną z przyczyn chorób nowotworowych i układu nerwowego. Toksyczność rtęci zależy od jej chemicznej postaci. **Najmniej toksyczne są jej związki nieorganiczne, najbardziej - alkilowe pochodne. Rtęć emitowana z antropogenicznych źródeł emisji jest transportowana głównie przez powietrze i może być przenoszona na znaczne odległości.** Głównymi źródłami emisji są procesy spalania paliw kopalnych, przeróbki rud żelaza i metali nieżelaznych, produkcji cementu. Istotny udział w emisji rtęci mają również spalarnie odpadów. Rtęć w powietrzu znajduje się w postaci gazowej lub zaadsorbowana na cząstkach pyłu zawieszzonego. W okolicach Zatoki Gdańskiej stężenie rtęci gazowej w powietrzu (2,3 ng/m³) jest podobne jak w innych regionach Europy, mimo dokładania się do naturalnego źródła, jakim jest morze, wielu źródeł antropogenicznych. Niestety, poziom rtęci w ostatnich latach wzrasta. Odpowiedzialny za ten stan jest nie tylko przemysł z naszego regionu. Przy odpowiednich warunkach meteorologicznych pary rtęci przenoszone są np. z Górnośląskiego Okręgu Przemysłowego czy z nad Kaliningradu, co powoduje nawet dziesięciokrotny wzrost stężenia.

Przedostawanie się metali wraz z pyłami do wody i gleby powoduje zmiany np. odczynu (pH), właściwości biochemicznych, składu ilościowego i jakościowego pierwiastków śladowych. Zmiany te naruszają stan równowagi dynamicznej obejmujące właściwości fizyczne, chemiczne i wynikające z nich właściwości biologiczne.

2. Zanieczyszczenia powietrza w pomieszczeniach zamkniętych

W naszej strefie klimatycznej najwięcej czasu spędzamy w pomieszczeniach zamkniętych. Przebywanie w domu, pracy, szkole, restauracji, kinie, środkach komunikacji miejskiej zajmuje dorosłemu człowiekowi średnio 80 % całego czasu. Osoby starsze i małe dzieci spędzają go w pomieszczeniach zamkniętych jeszcze więcej. **Nawet stosunkowo niskie stężenia zanieczyszczeń występujących w powietrzu w pomieszczeniach zamkniętych, ze względu na długi czas oddziaływania, mogą być zagrożeniem dla zdrowia.** Ilość zanieczyszczeń w powietrzu pomieszczeń zamkniętych zwiększa się z różnych powodów:

- budowania się zbyt szczelnych budynków, nie zapewniających wystarczającej wymiany powietrza (zapobiegających stracie energii),
- wprowadzania materiałów budowlanych i wykończeniowych o nierozpoznanych do końca właściwościach,
- zmniejszania wysokości i wielkości pomieszczeń.

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) uznała lotne związki organiczne za najistotniejsze zanieczyszczenia powietrza wewnętrznego. Powietrze nieszkodliwe, to takie, w którym całkowita zawartość tych związków jest mniejsza od $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Wśród zidentyfikowanych dotychczas ok. 500 lotnych związków, występujących w powietrzu wewnętrznym działanie chorobotwórcze udowodniono tylko niektórym. Natomiast wielu z nich przypisuje się wywoływanie takich objawów, jak: alergie, bóle głowy, wysuszenia lub podrażnienia śluzówki nosa, gardła i oczu, dekoncentracja i inne. Zespół takich objawów nazywany jest „**Syndromem Chorych Budynków**”. Jakość powietrza wewnętrznego zależy od powietrza atmosferycznego (zewnątrznego) i od emiterów wewnętrznych, jak:

- materiały budowlane,
- materiały wykończeniowe (farby, lakiery, tapety, wykładziny podłogowe, płyty styropianowe),
- spalanie, palenie tytoniu,
- środki czystości i konserwujące.

Największą grupę emitowanych związków stanowią węglowodory, wśród nich aromatyczne: **benzen, toluen, i ksyleny**. Znaczący udział mają też **estry krótkołańcuchowych kwasów organicznych, terpeny, formaldehyd, fenole i radon**.

Przyczyną zanieczyszczeń biologicznych pomieszczeń zamkniętych jest przede wszystkim wadliwa wentylacja (grzyby, roztocza), również zanieczyszczenia wentylacji mechanicznej (nieczyszczone wystarczająco często filtry, umożliwiające rozwój flory bakteryjnej).

3. Zanieczyszczenia powietrza na stanowiskach pracy

W odróżnieniu od powietrza atmosferycznego, zanieczyszczenia chemiczne na stanowiskach pracy występują w stężeniach wielokrotnie wyższych, związanych z emisjami bezpośrednimi spowodowanymi obecnością konkretnej instalacji lub stosowanej technologii. **Znajomość stężeń substancji szkodliwych dla zdrowia na stanowisku pracy oraz wielkości wchłoniętych dawek substancji szkodliwych pozwala przewidywać zdrowotne skutki narażenia, a także odpowiednio wcześniej stosować środki zaradcze w celu zmniejszenia ryzyka zawodowego.**

Sformalizowana strategia pomiarowa czynników chemicznych na stanowiskach pracy zawarta jest w dwóch normach: PN-89/Z-04008/07 *Ochrona czystości powietrza. Pobieranie próbek. Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacja wyników* oraz PN-EN 686:2002 *Powietrze na stanowiskach pracy. Wytyczne oceny narażenia inhalacyjnego na czynniki chemiczne przez porównanie z wartościami dopuszczalnymi i strategia pomiarowa*.

Zgodnie z definicją zawartą w tych normach, wartością odniesienia dla stężenia czynnika chemicznego w powietrzu jest **wartość dopuszczalna**, zwana również **normatywem higienicznym**. W Polsce wartości normatywów higienicznych opublikowane zostały w Rozporządzeniu Ministra Pracy i Polityki Społecznej z dnia 29 listopada 2002 r. (Dz. U. nr 217, poz. 1833), gdzie zamieszczono wykaz wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń czynników chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy. Definiuje się tam również takie pojęcia, jak:

- **najwyższe dopuszczalne stężenie, NDS** – wartość średnia ważona stężenia, którego oddziaływanie na pracownika w ciągu 8-godzinowego i przeciętnego tygodniowego wymiaru czasu pracy nie powinna spowodować ujemnych zmian w jego stanie zdrowia oraz zdrowia jego przyszłych pokoleń; stężenie średnie ważone C_w dla 8-godzinowego dnia pracy określane jest wzorem:

$$c_n = \frac{c_1 t_1 + c_2 t_2 + \dots + c_n t_n}{8} \quad (2)$$

gdzie:

c_1, c_2, \dots, c_n – średnie stężenia substancji oznaczone w poszczególnych okresach pomiarowych,
 t_1, t_2, \dots, t_n – czas trwania poszczególnych okresów pomiarowych (h).

- **najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe, NDSch** – wartość średnia stężenia, które nie powinno spowodować zmian w stanie zdrowia pracownika, jeżeli występuje w środowisku pracy nie dłużej niż 15 min i nie częściej niż 2 razy w czasie zmiany roboczej, w odstępie czasu nie krótszym niż 1 godzina.

W tab. 3 przedstawiono Najwyższe Dopuszczalne Stężenia wybranych substancji chemicznych. Aby móc porównać wyniki oznaczeń na stanowisku pracy z wartościami normatywów higienicznych należy obliczyć, na podstawie wyników oznaczeń, wartości logarytmów stężeń substancji w poszczególnych pobranych próbkach ($\lg X_i$), a także średnią arytmetyczną tych logarytmów wg wzoru:

$$\lg \bar{X}_g = \frac{\sum_{i=1}^n \lg X_i}{n} \quad (3)$$

gdzie:

n - liczba próbek pobranych w danym okresie pomiarowym.

Wielkość ta po odlogarytmowaniu jest średnią geometryczną wyników oznaczeń w danym okresie pomiarowym. Należy także obliczyć logarytm geometrycznego odchylenia ($\lg S_g$) wg poniższego wzoru:

$$\lg S_g = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\lg \bar{X}_g - \lg X_i)^2}{n-1}} \quad (4)$$

aby móc obliczyć odpowiednio dolną (DG) i górną (GG) granicę przedziału ufności dla średniej wyników pomiarów. Logarytmy, odpowiednio dolnej (DG) i górnej (GG) granicy przedziału ufności dla średniej wyników pomiarów, oblicza się ze wzorów:

$$\lg DG = \lg \bar{X}_g - t \frac{\lg S_g}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

$$\lg GG = \lg \bar{X}_g + t \frac{\lg S_g}{\sqrt{n}} \quad (6)$$

gdzie:

t – wartość parametru Studenta-Fishera dla prawdopodobieństwa 0,95 i liczby stopni swobody $n-1$.

Wielkości te, po odlogarytmowaniu stanowią odpowiednio dolną i górną granicę przedziału ufności, w którym z prawdopodobieństwem 95% znajduje się średnie stężenie substancji w danym okresie pomiarowym.

Tabela 3. Najwyższe dopuszczalne stężenie mg/m³ w zależności od czasu narażenia w ciągu zmiany roboczej; warunki pracy można uznać za bezpieczne, jeżeli GG ≤ ND, warunki pracy są szkodliwe, jeżeli DG > NDS

Nazwa substancji	Najwyższe dopuszczalne stężenie mg/m ³		Nazwa substancji	Najwyższe dopuszczalne stężenie mg/m ³	
	NDS	NDSCh		NDS	NDSCh
Acetaldehyd	5	-	Eter dimetylowy	1.000	-
Aceton	600	1.800	Etylobenzen	100	350
Acetonitryl	70	140	Fenol	7,8	-
Akrylamy	0,1	-	Formaldehyd	0,5	1
Akrylan metylu	20	70	Fosgen	0,08	0,16
Akrylonitryl	2	10	Ftalan dibutyli	5	10
Aldryna	0,01	0,08	Heksachlorobenzen	0,5	-
Amoniak	14	28	Heksan	100	400
Anilina	5	20	Kadm	0,01	-
Benzaldehyd	10	40	Ksylen – mieszanina izomerów	100	350
Benzen	1,6	-	Kwas octowy	15	30
Benzo[a]piren	0,002	-	Kwas pikrynowy	0,1	0,3
Bifenyl	1	2	Metakrylan metylu	50	400
Chlorobenzen	47	94	Metanol	100	300
4-Chlorofenol	1	3	Naftalen	20	75
Chloroform	8	-	Nitrobenzen	3	10
Chlorometan	20	160	Ołów	0,05	-
Cykloheksan	300	1.000	Ozon	0,15	-
1,2-Dichlorobenzen	90	180	Pentachlorofenol	0,5	1,5
1,2-Dichloroetan	50	-	Polichlorowane bifenyle	1	-
Dichlorofluorometan (Freon 21)	40	200	Rtęć		
Dichlorometan	20	50	a) organiczne	0,01	0,03
Dieldryna	0,01	0,08	b) nieorganiczne	0,05	0,15
Dietylobenzen - mieszanina izomerów	100	400	c) pary rtęci	0,025	0,2
Dioksan	10	80	Styren	50	200
Ditlenek siarki	2	5	Tetrachlorek węgla	20	100
Ditlenek węgla	9.000	27.000	Tlenek węgla	30	180
Etanol	1.900	-	Tlenki azotu	5	10
Eter dietylowy	300	600	Toluen	100	350
			Trichlorobenzen - mieszanina izomerów	15	30
			WWA suma iloczynów stężeń i współcz. rakotwórczości (9 rakotwórczych WWA)	0,002	-

4. Wody naturalne i ścieki

Wszystkie wody znajdujące się na powierzchni Ziemi (wody powierzchniowe) tworzą hydrosferę o masie ok. $1,35 \cdot 10^{18}$ t (z czego 98% to morza i oceany, tylko 2% udział mają wody lądowe). Woda hydrosfery to rozcieńczony roztwór różnych związków chemicznych, których jakość i ilość są podstawą podziału na wody słodkie i słone (tabela 4).

Wody naturalne występują w przyrodzie w ciągłym cyklu obiegowym (rysunek 2). Są to wody opadowe, powierzchniowe i podziemne. W czasie cyrkulacji do wód naturalnych przedostają się substancje organiczne, nieorganiczne, w tym również gazy, których skład zależy od wprowadzających je, poszczególnych elementów środowiska.

Wody wprowadzane sztucznie w obiegi bytowo-gospodarcze, w których zostają zanieczyszczone nazywa się ściekami. Skład ścieków zależy jest bardzo zróżnicowany, zależy od źródeł pochodzenia, np. komunalnych, przemysłowych i innych.

Tabela 4. Zawartość podstawowych jonów w wodach morskich i rzecznych (mg/dm³)

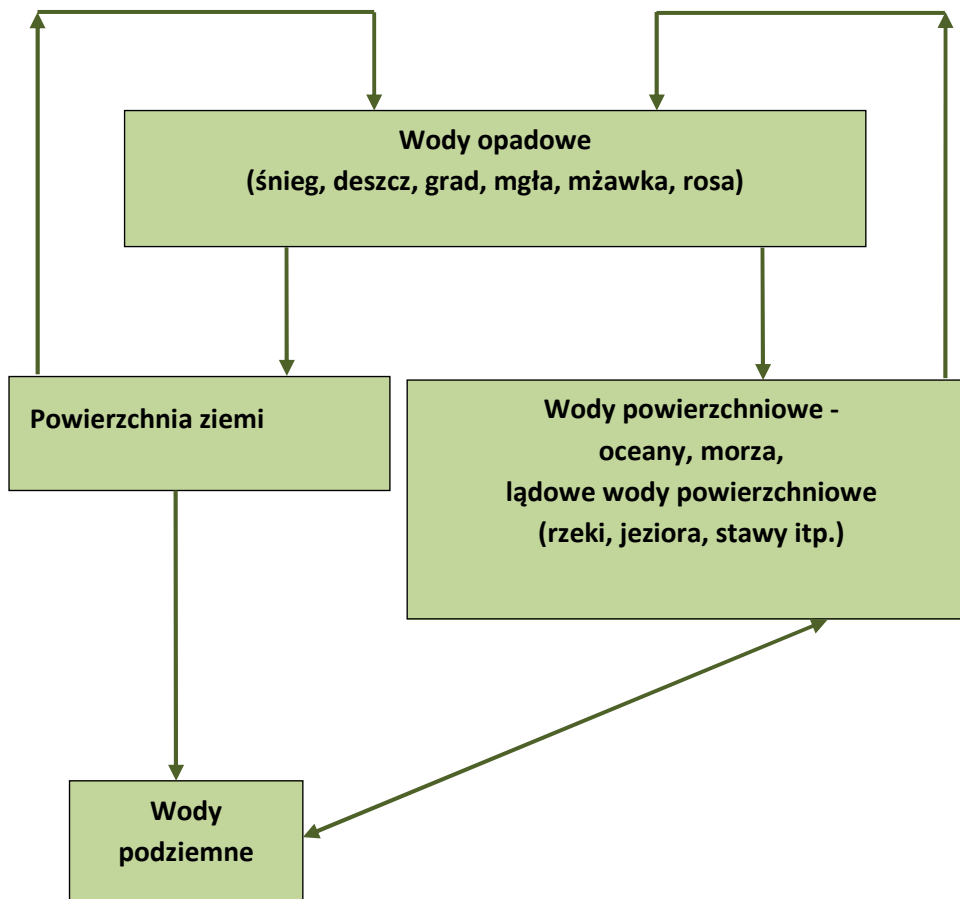
Jony	Wody	
	morskie	rzeczne
Na ⁺	10500	7,6
K ⁺	400	2
Mg ²⁺	1300	4,5
Ca ²⁺	400	19,5
Cl ⁻	19000	8,9
SO ₄ ²⁻	2700	16,2
HCO ₃ ⁻	140	65,5

4. 1. Wody opadowe

Zanieczyszczenia wód opadowych zależą od zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego. Są nimi:

- **gazy** (dwutlenek węgla, azot, amoniak, siarkowodór, dwutlenek siarki i in. – **patrz: „Zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego”**),
- **ciecze i substancje stałe rozpuszczone w wodzie** (azotany, wodorowęglan amonu, chlorek i siarczan(VI) sodu, kwas siarkowy(VI), produkty niepełnego spalania paliw, chemiczne środki chwastobójcze, owadobójcze, grzybobójcze i in.),
- **ciała stałe** (nierozpuszczalne sole nieorganiczne magnezu i wapnia, metale ciężkie, pierwiastki radioaktywne, pył, sadze, pyłki roślinne, mikroorganizmy).

Wody opadowe nie nadają się do picia bez uzdatniania, mogą być natomiast używane do innych potrzeb. Są wodami miękkimi, o zasoleniu do kilkudziesięciu mg/dm³.



Rysunek 2. Schemat cyrkulacji wody w środowisku naturalnym

4. 2. Wody powierzchniowe

Wody opadowe dostają się do wód powierzchniowych bezpośrednio lub po zetknięciu z ziemią, spływając do rzek, jezior i innych zbiorników powierzchniowych. Kontakt z ziemią zmienia ich skład fizyczno-chemiczny i mikrobiologiczny. Wody powierzchniowe mają większe zasolenie niż opadowe (do 500 mg/dm³) i większą twardość ogólną (10–15 stopni twardości, co odpowiada 60-90 mg CaCO₃/dm³).

Skład wody w zbiorniku powierzchniowym zależy od składu wód opadowych i od jego zlewni, czyli obszaru, z jakiego spływają do niego wody opadowe. **Zlewnie są podstawą podziału państwa na jednostki hydrograficzne. Główny podział hydrograficzny to obszary - jednostki hydrograficzne najwyższego rzędu.** Teren Polski obejmuje następujące obszary:

- 1 - dorzecze Odry,
- 2 - dorzecze Wisły,
- 3 - zlewnia Zalewu Szczecińskiego,
- 4 - dorzecza rzek przymorza,
- 5 - zlewnia Zalewu Wiślanego,
- 6 - dorzecze Niemna,
- 7 - dorzecze Dniestru,
- 8 - dorzecze Dunaju,
- 9 - dorzecze Łaby.

Skład wód powierzchniowych zależy od: czasu kontaktu z glebą, rodzaju gleby, zagospodarowania zlewni i związanego z nim zanieczyszczenia gleby, pory roku i intensywności opadów oraz warunków geograficznych, jak: ukształtowanie oraz pokrycie terenu. Wody powierzchniowe są zwykle zanieczyszczone, również z powodu odprowadzania do nich ścieków (przemysłowych i komunalnych) nie zawsze dostatecznie oczyszczonych.

Zanieczyszczenia mogą przedostawać się do wód bezpośrednio lub pośrednio.

- **Bezpośrednio** - powierzchniowe wody śródlądowe, morskie wody przybrzeżne, wody atmosferyczne, wody glebowe i płytkie wody gruntowe mogą zostać zanieczyszczone ściekami przemysłowymi i komunalnymi, ługowaniem różnych substancji chemicznych z wysypisk odpadów, opadami pyłów atmosferycznych, wymywaniem z gleb zawierających nawozy mineralne i środki ochrony roślin.
- **Pośrednio** - ścieki komunalne, przemysłowe i kopalniane w bezpośrednim sąsiedztwie powodują wyraźny wzrost stężenia pierwiastków śladowych w wodzie, osadach dennych i organizmach wodnych. Część tych zanieczyszczeń może być przenoszona dalej, w ciekach wodnych. Wody kopalniane mogą migrować na znaczne głębokości, powodując zanieczyszczenie wód w głębszych.

Rodzaj i ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do wód powierzchniowych decyduje o ich jakości oraz o stanie związanych z nimi ekosystemów. Przypadkowe, krótkotrwałe zanieczyszczenia wód powierzchniowych są usuwane przez samooczyszczanie w procesach biochemicznych, w których dochodzi do rozkładu związków organicznych na proste związki nieorganiczne takie, jak: CO₂, sole kwasu azotowego i siarkowego i wodę.

Na podstawie wyników badań monitoringowych, wody powierzchniowe poddaje się ogólnej ocenie jakości oraz odrębnie klasyfikacji wód powierzchniowych przeznaczonych dla wodociągów, wód powierzchniowych przeznaczonych dla kąpielisk i wód powierzchniowych będących środowiskiem życia ryb.

Oceny ogólnej jakości wód powierzchniowych dokonuje się na podstawie wartości 52 wskaźników fizyko-chemicznych i biologicznych.

Wyróżnia się 5 klas czystości wód:

I - wody o bardzo dobrej jakości, dla których wartości poszczególnych wskaźników jakości kształtowane są tylko poprzez naturalne procesy zachodzące w warstwie wodonośnej,

II - wody o dobrej jakości, dla których wartości wskaźników jakości wody nie wskazują na źródło antropogeniczne,

III - wody o zadowalającej jakości, wartości wskaźników jakości wody są podwyższone z powodu naturalnych procesów lub słabego działania antropogenicznego,

IV - wody o niezadowalającej jakości; wartości wskaźników jakości wody są podwyższone w wyniku naturalnych procesów lub słabego działania antropogenicznego, a wartości większości ich przekraczają wartości dopuszczalne dla wody przeznaczonej do picia,

V - wody o złej jakości; wartości wskaźników jakości wody dowodzą antropologicznego pochodzenia zanieczyszczeń.

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie kryteriów wyznaczenia wód wrażliwych na zanieczyszczenie związkami azotu ze źródeł rolniczych (Dz. U. Nr 241, poz. 2093) wody podziemne klasyfikuje się też na podstawie zawartości azotanów. Przepisanie klasy czystości wody odbywa się na podstawie pomiarów wykonywanych 1 raz w miesiącu. Woda należy do danej klasy, jeśli odpowiednia ilość próbek (np. dla wód wodociągowych - 95%) nie przekracza granicznych wartości 52 wskaźników.

Woda pitna w Polsce pochodzi w porównywalnych ilościach z wód powierzchniowych i wód gruntowych (studni) i w niewielkiej ilości z ujęć głębinowych.

Wody powierzchniowe, które mogą być wykorzystane do produkcji wody pitnej klasyfikuje się wg 3 kategorii:

- **kategoria A1 — woda o najlepszej jakości** (odpowiada jej **klasa I czystości wód**), wymagająca jedynie prostego uzdatniania fizycznego, w szczególności filtracji oraz dezynfekcji,
- **kategoria A2 — woda o gorszej jakości (klasa II i III czystości wód)**, wymagająca typowego uzdatniania fizycznego i chemicznego, w szczególności utleniania wstępnego, koagulacji, flokulacji, dekantacji, filtracji, dezynfekcji (chlorowania końcowego),
- **kategoria A3 — woda o słabej jakości** (odpowiada jej **klasa IV czystości wód**), wymagająca wysokosprawnego uzdatniania fizycznego i chemicznego, w szczególności utleniania, koagulacji, flokulacji, dekantacji, filtracji, adsorpcji na węglu aktywnym, dezynfekcji (ozonowania, chlorowania końcowego).

Kategorie jakości wód przeznaczonych do spożycia ocenia się na podstawie parametrów przedstawionych w tabeli 5. W tabeli podane są **wartości dopuszczalne** (dotyczą oceny łagodniejszej) i **zalecane** (dotyczą oceny ostrzejszej). Ocena ostrzejsza jest wymagana w przypadku ujęć wodnych zaopatrujących powyżej 100 000 ludności i przy kategorii A3. **Dane umieszczone w tabeli określają kategorie wód przed ich uzdatnianiem.**

Tabela 5. Wymagania, jakim powinny odpowiadać kategorie jakości wody A1 – A3 (załącznik nr 1 do rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 27 listopada 2002 r., poz. 1728)

L.p.	Wskaźniki jakości wody	Jednostki miary	Wartości graniczne wskaźników jakości wody					
			A1		A2		A3	
			Zalecane	Dopuszczalne	Zalecane	Dopuszczalne	Zalecane	Dopuszczalne
1	pH		6,5-8,5	6,5-8,5	5,5-9,0	5,5-9,0	5,5-9,0	5,-9,0
2	Barwa	mg/L	10	20* ²⁾	50	100* ²⁾		200* ²⁾
3	Zawiesiny ogólne	mg/L	25	25		30		35
4	Temperatura	°C	22	25* ²⁾	22	25* ²⁾	22	25* ²⁾
5	Przewodność	μS/cm przy 20 °C	1000	1000	1000	1000	1000	1000
6	Zapach	Stopień rozcieńczenia przy 25 °C	3	3	10	10	20	20
7	Azotany	mg/L	25	50* ²⁾		50* ²⁾		50* ²⁾
8	Fluorki	mg/L	0,7-1,0	1,5*	0,7-1,7	1,5	0,7-1,7	1,5
9	Żelazo	mg/L	0,1	0,3*	1,0	2,0*	1,0	2,0
10	Mangan	mg/L	0,05	0,05	0,1	0,1	1,0	1,0
11	Miedź	mg/L	0,02	0,05* ²⁾	0,05	0,05	1,0	0,5
12	Cynk	mg/L	0,5	3,0*	1,0	5,0*	1,0	5,0*
13	Bor	mg/L	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
14	Nikiel	mg/L		0,05		0,05		0,2
15	Wanad	mg/L		1,0		1,0		1,0
16	Arsen	mg/L	0,01	0,05*		0,05*	0,05	0,05*
17	Kadm	mg/L	0,001	0,005*	0,001	0,005*	0,001	0,005*
18	Chrom ogólny	mg/L		0,05*		0,05*		0,05*
19	Chrom ⁺⁶	mg/L		0,02*		0,02*		0,02*
20	Ołów	mg/L		0,05*		0,05*		0,05*
21	Selen	mg/L		0,01*		0,01*		0,01
22	Rtęć	mg/L	0,0005	0,001*	0,0005	0,001*	0,0005	0,001*
23	Bar	mg/L		0,1*		1,0*		1,0*

* - wody spełniają wymagania, jeżeli wskaźniki jakości oznaczone gwiazdką (*) nie są przekraczane w 95% próbek dla danej kategorii jakości wody, pozostałe wskaźniki jakości nie mogą być przekraczane w 90 % próbek dla danej kategorii jakości wody;

²⁾ – odstępstwa dopuszczalne z powodu wyjątkowych warunków, określonych w § 4 ust.2 rozporządzenia.

4. 3. Wody podziemne

Wody opadowe, po przefiltrowaniu przez przepuszczalne warstwy gruntu, wypełniają wolne przestrzenie między ziarenkami piasku i szczeliny w spękanych skałach, tworząc **wody podziemne**. Wodonośne warstwy piasku znajdują się między nieprzepuszczalnymi warstwami gliny czy iłów. **Skład wód podziemnych zależy od czynników naturalnych, takich jak: wietrzenie skał, erozja gleby, rozkład materii roślinnej oraz od czynników antropogenicznych.** W czasie filtracji do głębszych warstw gruntu, której prędkość jest mała, zachodzą procesy biochemiczne i sorpcyjne, dlatego wody podziemne nie są zbyt zanieczyszczone fizyko-chemicznie czy bakteriologicznie. **Najbardziej zanieczyszczone są wody zaskórne, które znajdują się nad powierzchniową warstwą nieprzepuszczalną. Im wodonośne warstwy piasku znajdują się głębiej i od powierzchni oddziela je więcej warstw nieprzepuszczalnych, tym woda zawiera mniej zanieczyszczeń (wody głębinowe). Najbardziej oczyszczone są wody wgłębne (wody artezyjskie), zalegające na głębokości ponad 20 m. Wody artezyjskie mogą być bezpośrednio używane do spożycia, jeśli zawartość soli (np. manganu czy żelaza) jest odpowiednia dla wody pitnej.**

Wg Ramowej Dyrektywy Wodnej Unii Europejskiej(z dn. 23 października 2000 r. – 2000/60/EC) i polskiego Prawa Wodnego (z dn. 18 lipca 2001 r., Dz. U. Nr 115, z późniejszymi zmianami) **wody podziemne, jako integralna część środowiska naturalnego podlegają ochronie.**

Ochrona wód podziemnych obejmuje:

- utrzymanie równowagi między zasilaniem wód podziemnych a ich poborem,
- zapobieganie niekorzystnym zmianom stanu chemicznego wody i jej ilości,
- zmianie kierunku niekorzystnych trendów wzrostu zanieczyszczeń antropogenicznych,
- zachowanie lub osiągnięcie dobrego stanu ilościowego i jakościowego (chemicznego).

Badania jakości wód obejmują:

- **wskaźniki fizyko-chemiczne** (odczyn, przewodność elektryczna właściwa, twardość ogólna, rozpuszczony węgiel organiczny, suma substancji rozpuszczonych, zasadowość mineralna i zasadowość ogólna),
- **wskaźniki chemiczne**, jak **pierwiastki** (arsen, bar, bor, chrom, cynk, glin, kadm, lit, magnez, mangan, miedź, nikiel, ołów, potas, sód, stront, wanad, wapń i żelazo), **związki chemiczne** (amoniak, azotany(III), azotany(V), chlorki, cyjanki, fluorki, fosforany(V), krzemionka, siarczany(VI), węglany i wodorowęglany).

Pomiary i badania wód podziemnych wykonywane są raz w roku.

4. 4. Ścieki

Wody, które zostały zanieczyszczone w obiegach bytowo-gospodarczych, komunalnych, przemysłowych i innych nazywa się ściekami. Na zanieczyszczenia składają się substancje organiczne, nieorganiczne, radioaktywne lub/i mikroorganizmy. Skład ścieków zależy od procesów, jakim były poddawane wody, dlatego ścieki dzieli się na:

- **bytowo-gospodarcze,**
- **przemysłowe,**
- **miejskie,**
- **opadowe (wody opadowe zmywające powierzchnię ziemi).**

Ścieki odprowadza się do zbiorników wód powierzchniowych. W zbiornikach powierzchniowych zachodzą procesy samooczyszczania pod warunkiem, że zdolność samooczyszczania zbiornika jest wystarczająca. Jeśli nie, ścieki muszą być poddane oczyszczeniu w takim stopniu, aby nie przekraczały możliwości zbiornika do ich unieszkodliwiania.

Ścieki miejskie, czy bytowo gospodarcze zawierają dużo materii organicznej (wydzieliny ludzi i zwierząt, odpadki organiczne, wody z mycia i prania itp.) i stanowią zagrożenie epidemiologiczne z powodu dużego namnożenia bakterii również chorobotwórczych. Duże ilości materii organicznej zwiększają zapotrzebowanie tlenu w zbiornikach naturalnych i zagrażają życiu biologicznemu.

Ścieki przemysłowe, choć nie stanowią zagrożenia bakteriologicznego, zawierają często substancje nieulegające biodegradacji w zbiornikach naturalnych (np. pestycydy, masy plastyczne, związki powierzchniowo czynne czy inne) lub wręcz substancje toksyczne (np. cyjanki, sole ołowiu, rtęci, arsenu). Nawet nietoksyczne chlorki, siarczany, fosforany nieorganiczne stają się szkodliwe, jeśli są wprowadzane ze ściekami w dużych stężeniach.

Oczyszczanie ścieków generuje osady ściekowe zawierające duże ilości substancji organicznych i nieorganicznych, czasami również groźne bakterie. Osady te muszą ulegać przeróbce.

Duże trudności w oczyszczaniu sprawiają odcieki ze składowisk odpadów komunalnych. Powodem trudności jest zmieniający się skład odcieków, zależny od rodzaju odpadów i czasu eksploatacji wysypiska. Wraz z czasem składowania zwiększa się ilość wielkocząsteczkowych związków organicznych opornych na biodegradację.

4. 5. Charakterystyka zanieczyszczeń organicznych wód

W wodach znajduje się szeroka gama związków organicznych różnego pochodzenia. Wśród substancji pochodzenia naturalnego można wymienić związki: **humusowe, chlorofil, produkty przemiany materii organizmów żywych, związki pochodzące z rozkładu obumarłych części roślin i zwierząt.** Człowiek wprowadził do naturalnego środowiska wodnego wiele niebezpiecznych zanieczyszczeń organicznych, jak: **pestycydy, fenole, jedno- lub wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, ftalany, barwniki organiczne, substancje powierzchniowo czynne, substancje ropopochodne, oleje, tłuszcze i inne.** Substancje te dostają się do wody czasami w sposób niezamierzony, z powodu awarii rurociągów, katastrof zbiornikowców. W większości jednak wprowadzane są z nieoczyszczonymi lub źle oczyszczonymi ściekami, z odciekami hałd górniczych czy wysypisk odpadów i bezpośrednio - przez stosowanie środków ochrony roślin i nawozów. Coraz częściej mówi się o zagrożeniu **środkami utrwalającymi żywność, lekami weterynaryjnymi, powszechnie stosowanymi środkami przeciwbólowymi, hormonalnymi oraz produktami ich przemian w organizmie i środowisku naturalnym.**

Substancje obecne w wodzie można ogólnie podzielić na nieorganiczne (mineralne) i organiczne. Taki podział niewiele mówi o przydatności wody do spożycia, więc substancje znajdujące się w wodzie podzielono na 3 kategorie:

- **związki bezpośrednio szkodliwe dla zdrowia** (trucizny, metale ciężkie),
- **związki, których obecność bezpośrednio nie zagraża zdrowiu, ale jest uciążliwa**, np. związki cynku, miedzi, związki azotowe, chlorki, substancje powodujące twardość czy suchą

pozostałość,

- **związki poządane lub nie, w określonych granicach stężeń**, jak związki fluoru czy jodu.

Do głównych zanieczyszczeń organicznych wód należą: pestycydy, fenole, jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne (BTEX), wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) i związki powierzchniowo czynne (detergenty).

Pestycydy to liczna grupa związków i preparatów chemicznych wykorzystywana do niszczenia chwastów, zaprawiania ziarna siewnego, zwalczania chorób roślin i szkodników upraw roślinnych a nawet do walki z owadami przenoszącymi choroby, jak malaria czy tyfus. Pestycydy przedostają się do środowiska wodnego głównie z pól uprawnych oraz ze ścieków przemysłowych i odcieków ze składowisk odpadów, ale mogą też pochodzić z bezpośredniego zastosowania, jako środka do niszczenia larw owadów czy roślin wodnych, przypadkowego lub umyślnego wyrzucania do zbiorników wodnych, niewłaściwego magazynowania czy składowania pestycydów lub ich opakowań.

Najbardziej niebezpieczne są **pestycydy chloroorganiczne** (DDT, metoksychlor, lindan i in.). Są to związki bardzo odporne na rozkład chemiczny, biologiczny czy fotochemiczny i długo zalegają w środowisku. Mimo zakazu stosowania niektórych pestycydów chloroorganicznych i zastępowania ich coraz częściej fosforoorganicznymi i karbaminianowymi (szybciej ulegają degradacji), stanowią one ciągłe zagrożenie dla środowiska naturalnego. Znaczna ich część kumuluje się w organizmach żywych. Nieraz jest ich więcej w organizmie wodnym niż w samej wodzie a łańcuch pokarmowy może wielokrotnie zwiększyć ich stężenie i powodować przedostawanie się do organizmu człowieka.

Pestycydy znajdujące się w środowisku wodnym zakłócają jego równowagę biologiczną, działają toksycznie na ryby i zooplankton, opóźniają samooczyszczanie się wód, powodują pienienie wody i pogarszają jej właściwości organoleptyczne. Zawartość sumy insektycydów chloroorganicznych w wodach powierzchniowych śródlądowych nie powinna przekraczać $0,05 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ a insektycydów fosforoorganicznych i karbaminianowych – $1,0 \mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Fenole są bardzo często używane jako reagenty w przemyśle chemicznym a wśród nich głównie fenol i krezol. Odprowadzane ze ściekami do środowiska wodnego stanowią poważne zagrożenie. Znajdują się przede wszystkim w ściekach z koksowni, gazowni, rafinerii, z zakładów produkcji tworzyw sztucznych, barwników, środków ochrony roślin. Do wód podziemnych fenole przedostają się z wysypisk odpadów komunalnych, gdzie powstają w wyniku rozkładu białka, związków humusowych, lignin i innych.

Fenole są związkami toksycznymi dla środowiska wodnego i zakłócają procesy samooczyszczania.

Niewielkie ilości fenoli, naturalnie występujące w wodach lądowych, nie stanowią zagrożenia dla zdrowia. Problem pojawia się w czasie chlorowania wody. W czasie dezynfekcji wody w wyniku chlorowania substancji humusowych powstają chlorofenole. Jest to ogólna nazwa pochodnych fenolu, w którym jeden lub więcej atomów wodoru jest zastąpiony atomem chloru. W sumie tworzą one 19

różnych kongenerów. Wszystkie chlorowe pochodne fenolu charakteryzują się bardzo intensywnym zapachem, wyczuwalnym w wodzie nawet na poziomie ppb (części na miliard). **Głównym źródłem narażenia człowieka na toksyczne działanie chlorofenoli jest woda pitna po dezynfekcji chlorem, zawierająca 4-chlorofenol, 2,4,5-trichlorofenol lub 2,4,6-trichlorofenol.**

Dopuszczalna zawartość fenoli, oznaczana jako suma wszystkich pochodnych fenolu (tzw. **indeks fenolowy**) została przedstawiona w tabeli 6. Prezentowane stężenia są wartościami granicznymi w klasach czystości wód od I do V – zarówno dla wód powierzchniowych, jak i wód podziemnych.

Tabela 6. Wartości graniczne stężeń (mg/L) sumy fenoli (indeks fenolowy)

	Klasa czystości				
	I	II	III	IV	V
Fenole mg/L	0,001	0,005	0,01	0,05	>0,05

Chlorofenole przedostają się do naturalnego środowiska wodnego ze ściekami z przemysłu chemicznego, ale głównie ze źródeł rolniczych na skutek stosowania pestycydów. W warstwach powierzchniowych wód chlorowe pochodne fenolu ulegają przemianom fotochemicznym, prowadzącym do powstania nowych związków o różnym stopniu toksyczności i trwałości, np. fotodegradacja pentachlorofenolu prowadzi do powstania około 30 nowych związków chemicznych: pochodnych fenolu, katecholi, alkoholi i kwasów karboksylowych. W wodach powierzchniowych chlorofenole ulegają stopniowej adsorpcji w osadach dennych, gdzie ulegają biodegradacji z udziałem mikroorganizmów.

Najbardziej toksycznym i uciążliwym chlorofenolem w środowisku jest pentachlorofenol (PCP), stosowany głównie jako herbicyd do niszczenia młodych chwastów dwuliściennych (fungicyd) oraz jako środek do zaprawiania drewna.

Techniczny preparat PCP może być zanieczyszczony polichlorodibenzodiodynami (PCDDs) i polichlorodibenzofuranami (PCDFs), co znacznie podnosi jego działanie toksyczne. Innym źródłem PCP w środowisku jest przemysł celulozowo-papierniczy oraz rozpad innych pestycydów, jak lindanu lub heksachlorobenzenu. PCP wchłania się do ustroju przez przewód pokarmowy, skórę oraz układ oddechowy. Bez względu na drogę narażenia, pentachlorofenol jest związkiem toksycznym (LD_{50} 27-205 mg/kg m. c.), działającym silnie drażniąco na skórę i błony śluzowe człowieka. Przy bezpośrednim kontakcie wywołuje stany zapalne skóry i oparzenia, a przy wielokrotnym działaniu – trądzik chlorowy i czyracznosc. Badania toksykologiczne wykazują, iż wysokie dawki PCP mogą wpływać na rozwój kancerogenezy i mutagenności zwierząt.

Dużą grupą związków zanieczyszczających wody są **węglowodory**. Są to węglowodory alifatyczne pochodzące z benzyny, jak $C_6 - C_{12}$, oleju mineralnego ($C_{12} - C_{37}$) oraz węglowodory aromatyczne jedno- i wielopierścieniowe. **Jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne**, powszechnie stosowane, jako rozpuszczalniki i reagenty w przemyśle chemicznym, takie jak benzen, toluen, etylobenzen i ksyleny, znane są pod nazwą skrótową BTEX (**patrz: Zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego**).

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) to obszerna grupa związków chemicznych o budowie pierścieniowej, charakteryzujących się zbliżonymi własnościami fizykochemicznymi.

WWA emitowane z różnych źródeł ulegają stopniowej dystrybucji w środowisku, gdzie ostatecznie deponowane są w glebach (90%) i osadach dennych (9%). Niewielkie ilości WWA utrzymują się w powietrzu (0,5%) oraz w wodach powierzchniowych (0,5%).

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne przedostają się do wód powierzchniowych w wyniku mokrej i suchej depozycji, trafiają także do wód w wyniku wymywania z nawierzchni dróg (z wodami spływnymi), gdzie znajduje się wysokie stężenie WWA pochodzących ze spalin samochodowych, ze ścierania opon gumowych przy hamowaniu i z samego asfaltu bogatego we frakcje węglowodorów aromatycznych. Dodatkowym źródłem są także niekontrolowane zrzuty ścieków przemysłowych i bytowo-gospodarczych a także odcieki ze składowisk odpadów. Ze względu na bardzo słabą rozpuszczalność, WWA w wodach naturalnych występują głównie w formie zaadsorbowanej na cząstkach materii zawieszanej, co ułatwia ich uprzywilejowaną depozycję w osadach dennych.

Dopuszczalną zawartość WWA w wodach zawarto w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód. Dopuszczalna zawartość WWA, definiowana jako suma benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(a)pirenu, dibenzo(a,h)antracenu, benzo(g,h,i)perylenu oraz indeno(1,2,3-cd)piranu przedstawiona została w tabeli 7. Przedstawione stężenia są wartościami granicznymi w klasach czystości wód od I do V. Poza tym, w ramach Rozporządzenia Ministra Budownictwa z dnia 14 lipca 2006 r. w sprawie sposobu realizacji obowiązków dostawców ścieków przemysłowych oraz warunków wprowadzania ścieków do urządzeń kanalizacyjnych (Dz. U. z dnia 28 lipca 2006 r.), wśród kilkunastu dopuszczalnych wartości wskaźników zanieczyszczeń w ściekach przemysłowych wprowadzanych do urządzeń kanalizacyjnych zawarto również wartości odniesienia dla WWA, których sumaryczne stężenie nie może przekraczać 0,2 mg/L.

Tabela 7. Wartości graniczne stężeń ($\mu\text{g/L}$) sumy benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(a)pirenu, dibenzo(a,h)antracenu, benzo(g,h,i)perylenu oraz indeno(1,2,3-cd)piranu w wodach powierzchniowych i gruntowych

	Klasa czystości				
	I	II	III	IV	V
Wody powierzchniowe $\mu\text{g/L}$	0,01	0,05	0,2	1,0	>1,0
Wody gruntowe $\mu\text{g/L}$	0,01	0,02	0,03	0,05	>0,05

Dużą grupą związków zanieczyszczających wody są **związki powierzchniowo czynne**. Są zbudowane z dwóch części, różniących się skrajnie polarnością i wykazują właściwość obniżania napięcia powierzchniowego. Nazywane są substancjami powierzchniowo czynnymi (**SPC**), **detergentami**, **surfaktantami** lub **tenzydami**. Ze względu na budowę wyróżnia się trzy zasadnicze grupy detergentów: **anionowe**, **kationowe** i **niejonowe**. Inny podział oparty jest na podatności na biodegradację. **Detergenty "miękkie"** to SPC niedające trwałej piany i łatwo ulegające biodegradacji. Są to najczęściej prostolańcuchowe alkiloarylosulfoniany (ang. - *linear alkylate sulfonate*, LAS). **Detergenty "twarde"** to przede wszystkim alkiloarylosulfoniany o rozgałęzionych łańcuchach alkilowych (ABS). Tworzą one trwałą pianę i nie ulegają degradacji biochemicznej w biologicznych oczyszczalniach ścieków. Trwała piana jest dużym problemem dla oczyszczalni (powoduje opory na

filtrach piaskowych, utrudnia koagulację i sedymentację). W środowisku naturalnym piana zakłóca proces samooczyszczania wód. Detergenty wywierają toksyczny wpływ na biocenozę zbiorników wodnych. Szczególnie wrażliwe na detergenty są bakterie nitryfikujące, bakterie Gram-ujemne tolerują większe stężenia SPC niż bakterie Gram-dodatnie (są też bakterie, które wykorzystują detergenty, jako źródło węgla, zmniejszając tym samym zanieczyszczenie). **Detergenty działają szkodliwie na glony, ryby i inne organizmy wodne**, możliwy jest też negatywny wpływ na organizmy wodne produktów rozkładu "miękkich" SPC. **Kumulując się w narządach wewnętrznych ludzi i zwierząt, mogą wpływać na strukturę białka i wywoływać alergie i zmiany na skórze.**

Detergenty działają toksycznie na rośliny i zwierzęta również pośrednio - **ułatwiają rozpuszczanie niebezpiecznych toksyn**, jak WWA czy pestycydów i mogą ułatwiać ich kumulację w organizmie. **Najbardziej toksyczne są związki kationowe, najmniej - niejonowe.**

4. 6. Charakterystyka zanieczyszczeń nieorganicznych wód

Metale ciężkie to pierwiastki o gęstości większej od 4,5 g/cm³. Są ważnym składnikiem skorupy ziemskiej i nieodnawialnym bogactwem naturalnym. Ekspansywna gospodarka metalami doprowadziła do rozprzestrzenienia się ich w środowisku organizmów żywych i w nich samych. Przedostają się do atmosfery, gleby i wody a następnie do roślin, zwierząt i ludzi.

Występowanie metali ciężkich w wodzie zależy od czynników wpływających na ich rozpuszczalność: obecności innych składników wody, pH, potencjału utleniająco-redukcyjnego, zdolności tworzenia rozpuszczalnych w wodzie kompleksów.

Niektóre z metali ciężkich są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych. Są to tzw. mikroelementy, jak cynk, miedź, żelazo. Inne są zbędne lub wręcz niebezpieczne, jak: ołów, kadm, rtęć, chrom czy nikiel. Toksyczność metali ciężkich zależy od stopnia skażenia środowiska, od ich udziału w reakcjach biochemicznych, od stopnia wchłaniania i wydalania, te zależą od formy chemicznej i fizycznej, w jakiej występują (specjacji).

Często termin „metale ciężkie” używany jest do określenia pierwiastków (metali i niemetalii) wykorzystywanych przez przemysł i wykazujących toksyczne działanie na ludzi i środowisko.

Szczególnie niebezpieczne są:

arsen, miedź, kadm, ołów, rtęć, cynk, chrom, nikiel i selen.

Arsen przedostaje się do środowiska wodnego ze ściekami przemysłowymi z zakładów farmaceutycznych, garbarskich, produkujących barwniki, z hut, wód kopalnianych oraz z pokładów geologicznych. Arsen mogą również zawierać środki owadobójcze, grzybobójcze i chwastobójcze.

Toksyczność arsenu zależy od jego postaci chemicznej. W połączeniach organicznych jest mniej toksyczny niż w nieorganicznych. **Arsen trójwartościowy jest zdecydowanie bardziej toksyczny niż pięciwartościowy. Arsen uszkadza centralny układ nerwowy, pokarmowy, oddechowy i skórę. Dawka 70-180 mg jest śmiertelna.** Małe dawki arsenu przyjmowane przez długi czas powodują osłabienie mięśniowe, utratę apetytu, nudności, zapalenie błon śluzowych, choroby skóry i in. **Dopuszczalna dawka arsenu w wodzie do picia nie może przekraczać 0,010 mg/L.**

Źródłem emisji **chromu** do środowiska, zwłaszcza do wód powierzchniowych, jest przemysł galwanizacyjny, garbarski, włókienniczy, impregnacji drewna, barwników, tworzyw sztucznych, zakłady drukarskie i graficzne. W wodach podziemnych chrom występuje rzadko. Jeśli chrom znajduje się w wodach wodociągowych, to oznacza źle oczyszczone wody powierzchniowe lub zanieczyszczenie sieci wodami chłodniczymi, które często zawierają sole chromu dla ochrony przed korozją. Chrom może też przenikać do wody z chromowanych elementów instalacji.

Związki, w których chrom występuje na III stopniu utlenienia, w małych ilościach nie są toksyczne, a wręcz niezbędne do prawidłowego funkcjonowania żywego organizmu. Trójwartościowa postać chromu jest trwała w środowisku obojętnym. W środowisku alkalicznym lub kwaśnym chrom może występować na VI stopniu utlenienia (odpowiednio w postaci jonów chromianowych i dichromianowych).

Chrom(VI) jest bardzo toksyczny. U ludzi wywołuje przewlekłe zatrucia (perforacja błon śluzowych), stany zapalne płuc, owrzodzenie dwunastnicy, zmiany w mięśniu sercowym. Wykazuje również właściwości mutagenne i rakotwórcze (wywołuje głównie raka płuc i oskrzeli). Dopuszczalna zawartość chromu(VI) w wodzie do spożycia nie może przekraczać 0,010 mg/L, sumaryczna zawartość chromu nie może przekraczać 0,050 mg/L.

Chrom(VI) jest bardzo toksyczny dla wielu organizmów. Ścieki zawierające chrom utrudniają ich biochemiczne oczyszczanie.

Źródłem **cynku** w środowisku wodnym są zanieczyszczenia przemysłowe z produkcji baterii, farb, tekstyliów, tworzyw sztucznych, z drukarni i zakładów graficznych, z zakładów wzbogacania rudy i zakładów galwanizacyjnych. Cynk może występować w wodach również naturalnie, jako efekt wymywania z gleby. W ujęciach wody czy wodach przemysłowych cynk występuje z powodu używania rur i armatury ocynkowanej. W wodach wodociągowych może znajdować się z powodu korozji metali. Postać rozpuszczalna cynku to sole i kompleksy cyjankowe lub winianowe. Nadmiar związków cynku w wodzie pogarsza jej walory smakowe, dając metaliczny posmak oraz powoduje mętnienie w środowisku alkalicznym (nierozpuszczalne wodorotlenki).

Cynk należy do mikroelementów, bierze udział w metabolizmie białek i węglowodanów, potrzebny jest do funkcjonowania układu krwionośnego, kostnego i rozrodczego.

Nadmiar cynku jest przyczyną zaburzeń w przewodzie pokarmowym, powoduje niedokrwistość, utrudnia wchłanianie wapnia, miedzi, żelaza i innych. Kumuluje się głównie w nerkach i wątrobie. Woda do picia i potrzeb gospodarczych nie może przekraczać stężenia cynku o wartości 5 mg /L.

Cynk wpływa ujemnie na hodowlę ryb, zwłaszcza na rozwój narybku. Ścieki odprowadzane powinny mieć jak najmniejszą zawartość cynku, w wodach powierzchniowych nie powinno być więcej niż 2 mg/L.

Źródłem emisji **kadm** do środowiska są galwanizownie, zakłady produkcji barwników, baterii, akumulatorów, farb, tworzyw sztucznych, środków ochrony roślin, instalacje wodociągowe zawierające kadm i in. Kadm przedostaje się do zbiorników wodnych w transporcie rzeczonym, z opadem pyłów atmosferycznych, jednak w wodach morskich jest go mniej niż w rzekach. Jako naturalną zawartość kadmu przyjmuje się 0,02 µg/L, wartość ta jest obecnie znacznie przekroczona. Kadm przedostaje się również do wód gruntowych i podziemnych z gleb. W osadach rzek i zbiorników wodnych podlega szybkiemu związaniu, w którym biorą udział również bakterie, wytrącając go w postaci siarczków.

Istnieje ryzyko wprowadzenia kadmu w łańcuch żywnościowy w przypadkach odławiania ryb ze

zbiorników zanieczyszczonych, ponieważ roślinność wodna jak i organizmy zwierzęce pobierają kadm proporcjonalnie do występowania.

Kadm kumuluje się głównie w wątrobie i nerkach. Narusza metabolizm innych pierwiastków, wchodząc w miejsce takich jak wapń, magnez, żelazo, cynk i miedź. Efektem tego są zmiany deformacyjne kości, zaburzenia neurologiczne, nadciśnienie tętnicze i uszkodzenia narządów wewnętrznych (nerka, gruczołu krokowego, łącznie ze zmianami nowotworowymi). Dopuszczalne stężenie Cd w wodach pitnych ustalono na 5 µg/L.

W roślinach kadm kumuluje się głównie w korzeniach, powoduje zaburzenia fotosyntezy. Warto zapamiętać, że w niektórych roślinach kadm kumuluje się również w liściach, np. tytoniu.

Źródłem związków **miedzi** w środowisku naturalnym są ścieki przemysłu metalurgicznego, maszynowego, farbiarskiego, tekstylnego, produkcji środków ochrony roślin i nawozów. Sole miedzi stosowane są do niszczenia zakwitów w różnych zbiornikach wodnych i niszczenia narostów biologicznych w wodach wodociągowych. Do wody wodociągowej miedź może przechodzić z rur miedzianych, instalacji wykonanych z mosiądzu lub brązu. W wodach naturalnych niewielkie ilości miedzi znajdują się w zbiornikach z terenów bagiennych i torfowisk.

Miedź jest mikroelementem niezbędnym dla organizmu (np. bierze udział w syntezie hemoglobiny, niezbędna dla przyswajania żelaza), **ale związki miedzi spożywane w nadmiarze są toksyczne. Wywołują różne zmiany metaboliczne, niszczą narządy wewnętrzne, takie jak nerki, wątrobę, serce i naczynia wieńcowe i mózg (katalizują utlenianie tłuszczów i wywołują miażdżycę).**

Miedź nie ulega kumulacji w organizmie i naturalne małe jej ilości nie stwarzają zagrożenia. **Woda do picia nie powinna zawierać więcej miedzi niż 2 mg/L.**

Większe ilości miedzi mogą powodować zmiany organoleptyczne wody (gorzki lub cierpki smak), zmiany barwy warzyw w czasie obróbki cieplnej oraz zmiany zabarwienia urządzeń sanitarnych. Do najbardziej toksycznych związków miedzi(II) należy siarczan(VI) miedzi, zasadowy lub obojętny węglan oraz octan. Związki miedzi działają na organizmy wodne: ryby, glony, bakterie; utrudniają biologiczne oczyszczanie ścieków i samooczyszczanie zbiorników powierzchniowych. Dopuszczalne stężenie miedzi w ściekach, ich odbiornikach i wodach kategorii A3 nie może przekraczać 0,5 mg/L, a w wodach kategorii A1, A2 - 0,05 mg/L.

Źródłem emisji **niklu** do środowiska naturalnego jest przemysł galwanizerski, papierniczy, rafineryjny, metalurgiczny (stalownie), nawozów sztucznych. Nikiel występuje w związkach rozpuszczalnych w wodzie, jako kation lub jon kompleksowy (kompleks cyjankowy) lub w postaci cyjanków, siarczków, węglanów czy wodorotlenków, nierozpuszczalnych w wodzie.

Nikiel należy do mikroelementów. Aktywuje niektóre enzymy i wpływa na aktywność hormonalną. Niedobór niklu u ludzi jest przyczyną wielu nieprawidłowości, jak np. zahamowanie wzrostu. **Za duże ilości niklu kumulują się w węzłach limfatycznych, co jest powodem zmian w szpiku kostnym i chromosomach a także może być powodem wielu nowotworów. Dopuszczalna zawartość niklu w wodzie do spożycia nie powinna przekraczać 0,020 mg/L.**

Nikiel, jak wiele innych metali ciężkich, blokuje w organizmach roślin dostęp innych mikroelementów. Związki niklu wpływają hamująco na biologiczne procesy oczyszczania ścieków, osadów ściekowych i wód powierzchniowych.

Źródłem emisji **ołowiu** do środowiska naturalnego jest przemysł barwników, akumulatorów, baterii,

nawozów sztucznych, energetyczny, elektrochemiczny, ochrony roślin oraz motoryzacja. Ołów w wodzie może też pochodzić z niektórych powłok antykorozyjnych, rur PCV, jeśli w procesie stabilizacji był używany ołów. Większość związków ołowiu, tj. węglany; siarczany(VI); fosforany(V), są trudno rozpuszczalne w wodzie. Z tego powodu naturalna zawartość Pb w wodach jest niska, przyjmuje się, że: wynosi ona w wodach morskich 0,01-0,06 $\mu\text{g/L}$; w rzecznych 0,2 $\mu\text{g/L}$, natomiast **dopuszczalne stężenie Pb w wodzie pitnej wynosi 25 $\mu\text{g/L}$** . Związki ołowiu źle wpływają na własności organoleptyczne wody.

Zawartość ołowiu w osadach dennych jest wskaźnikiem zanieczyszczenia wód powierzchniowych. Dobrymi wskaźnikami skażeń ołowiem jest fauna morska, gdyż ołów w wodzie podlega znacznej biokumulacji. Z powodu kumulowania się ołowiu w tkankach, głównie w kościach, w narządach mięszeniowych i układzie nerwowym jest on bardzo szkodliwy dla zdrowia człowieka.

Zatrucie ołowiem (zw. ołowicą) jest ciężką, przewlekłą chorobą, z objawami śpiączkowymi i psychicznymi, czasami śmiertelną. Powodem tego są duże zakłócenia w syntezie hemoglobiny, w funkcjonowaniu szpiku kostnego, wątroby, w działaniu wielu enzymów wywołane przez związki ołowiu.

Szczególnie groźnym związkiem jest **tetraetylołów**, $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$, który bardzo łatwo wchłania się przez skórę, co prowadzi do poważnych uszkodzeń układu nerwowego.

Rtęć przedostaje się do wód z opadów atmosferycznych, ze spływem wód gruntowych i powierzchniowych, przy czym deszcz i śnieg odgrywają szczególną rolę w obiegu rtęci. Pierwiastek ten w wodach występuje w dużym rozproszeniu. Jego średnie stężenie w morzach i oceanach określono na 0,005 $\mu\text{g/dm}^3$, w rzekach na 0,01 $\mu\text{g/dm}^3$.

Związki rtęci w wodach zależą od warunków utleniająco-redukcyjnych. I tak kolejno: w wodach o właściwościach utleniających przeważają; HgCl_4^{2-} , HgOH^+ , w redukcyjnych

CH_3HgS^- , HgS_2^- , natomiast w wodach o warunkach zmiennych - CH_3HgCl , $\text{CH}_3\text{Hg}^{2+}$.

Wszystkie formy rtęci, w tym metylo-, etylo- czy fenylortęć, są bardzo toksyczne dla organizmów wodnych, które kumulują związki rtęci, a szczególnie łatwo alkilowe pochodne. Ścieki zawierające związki rtęci źle wpływają na procesy biochemiczne w oczyszczalniach ścieków.

Źródłem rtęci są odpady przemysłowe przy produkcji baterii, kwasu fosforowego, sody kaustycznej, środków ochrony roślin, mas plastycznych, pestycydów, ponadto w przemyśle farmaceutycznym, celulozowym, petrochemicznym i przy wytwarzaniu rtęci metalicznej.

Zatrucia rtęcią powodują odczyny zapalne w płucach i zaburzenia układu nerwowego. Zatrucia przewlekłe mogą prowadzić do zmiany osobowości, depresji, halucynacji. W przewodzie pokarmowym związki rtęci działają żrąco i odkładają się w nerkach i wątrobie. Powoduje to różne dolegliwości gastryczne, prowadzące do uszkodzenia narządów wewnętrznych, głównie nerek. Śmiertelna dawka wynosi ok. 1 g. Dopuszczalna zawartość rtęci w wodzie pitnej to 0,001 mg/l.

Selen przedostaje się do wód z gleby i ze ściekami z wielu gałęzi przemysłu, jak ceramicznego, szklarskiego, produkcji kauczuku, środków owadobójczych, aparatów sygnalizacyjnych. Ilość czy obecność selenu w wodzie uwarunkowana jest jego postacią chemiczną. Selen może występować na różnym stopniu utlenienia (np. w postaci selenianów(IV) i selenianów(VI)), w związkach nieorganicznych i organicznych.

Selen jest silnie trujący dla ludzi i zwierząt. Jego działanie jest zbliżone do działania arsenu, prawdopodobnie posiada właściwości nowotworowe. Dopuszczalna zawartość selenu w wodzie pitnej to 0,010 mg/L.

Azotany(V) występujące naturalnie w wodach powierzchniowych są w małych ilościach. Większe ilości wprowadzane są ze ściekami miejskimi, przemysłowymi, z odwodnień kopalń, z pól nawożonych nawozami azotowymi. Azotany(V) przyczyniają się do szybkiej eutrofizacji (zwiększania żyzności) wód powierzchniowych. Proces eutrofizacji jest niekorzystny, nie tylko, jeśli dotyczy zbiorników będących ujęciami wody. W żyznych wodach występują zakwity fitoplanktonu, np. sinic, które zmniejszają dopływ światła dla roślin i zwierząt wodnych, wydzielają toksyny, są przyczyną niedoboru tlenu i zatrucia siarkowodorem.

Azotany(V) są produktem utleniania azotu organicznego w obecności tlenu przez bakterie gleby i wody. Azotany(V) występują zwykle w ściekach świeżych, z czasem ulegają redukcji do azotanów(III) i amoniaku.

Za wysokie stężenie azotanów(V) w wodzie do picia może powodować zwiększone zapotrzebowanie na witaminę A, zakłócenia wzrostu. Szczególnie niebezpieczny jest wzrost stężenia azotanów(V) do stężenia powyżej 10 mg/L, który powoduje sinicę u niemowląt.

Dopuszczalna zawartość azotanów(V) w wodzie do picia wynosi 50 mg/L, jeśli jest spełniony warunek: $[\text{azotany(V)}]/50 + [\text{azotany(III)}]/3 \leq 1$, gdzie wartości w nawiasach kwadratowych oznaczają stężenie azotanów(V) i azotanów(III) w mg/L, ponadto, aby stężenie azotanów(III) w wodzie wprowadzanej do sieci wodociągowej lub innych urządzeń dystrybucji nie przekraczało wartości 0,10 mg/L.

W wodzie naturalnej **azotany(III)** występują w bardzo małych ilościach, głównie w wodach z terenów bagnistych i leśnych. Azotany(III) występują w ściekach z rozkładu azotowych związków organicznych i redukcji w środowisku beztlenowym azotanów(V). W trakcie chlorowania łatwo przekształcają się w azotany(V). Azotany(III) występują w znacznych ilościach w ściekach długo przetrzymywanych w kanalizacji. Azotany(III) nie są trwałe, są produktem przejściowym w cyklu przemian azotu, łatwo przechodzą w azotany(V) lub amoniak. Jeśli są obecne w wodzie, to znaczy zachodzą w niej reakcje utleniania i redukcji. Dlatego azotany(III) powinny być oznaczane razem z azotanami(V).

Niekiedy zawartość azotanów(III) może świadczyć o niekorzystnych procesach zachodzących w wodzie z punktu widzenia sanitarnego. Przekroczenie stężenia azotanów(III) w wodzie podziemnej powyżej 0,010 mg/L może być wynikiem skażenia jej szczątkami zwierzęcymi. Potwierdzają to również zwiększone ilości chlorków, amoniaku, azotanów(V) oraz zwiększona utlenialność.

Szkodliwość azotanów(III) wynika z możliwości tworzenia nitrozozwiązków, wywołujących procesy nowotworowe. Dopuszczalna zawartość azotanów(III) w wodzie pitnej wynosi 0,50 mg/L z zastrzeżeniem jak w przypadku azotanów(V).

Anion chlorkowy jest najczęściej występującym anionem w wodzie i ściekach. Chlorek sodu, chlorek potasu i chlorek wapnia to sole występujące we wszystkich wodach. W naturze pochodzą z pokładów geologicznych, natomiast człowiek „uzupełnia” ilość chlorków przez posypywanie dróg solą, odprowadzanie ścieków miejskich (człowiek wydała dziennie ok. 10 g chlorków), odprowadzanie ścieków z regeneracji kationitów stosowanych do uzdatniania wody na cele przemysłowe i odprowadzanie ścieków przemysłowych. Obecność chlorków w wodzie powoduje zwiększenie korozji.

Spożywanie nadmiernych ilości chlorków przez człowieka jest niepożądane, mogą one powodować nadciśnienie tętnicze krwi i choroby serca.

Duże ilości chlorków źle wpływają na rozwój roślin. Brak słonego smaku wody nie zawsze jest wskaźnikiem małej ilości chlorków. Jony wapnia i magnezu nie dają słonego smaku nawet w wodzie zawierającej 1 g chlorków w litrze. **W Polsce woda do picia nie powinna zawierać chlorków więcej niż 250 mg/L.**

Cyjanki w wodach naturalnych przeważnie nie występują. Zanieczyszczenie powodują ścieki przemysłowe (galwanizernie, koksownie, gazownie, zakłady obróbki metali i in.) Cyjanki są bardzo toksyczne i ścieki, których są obecne nie powinny być odprowadzane do zbiorników wód powierzchniowych. Małe ilości cyjanków, spożywane głównie z pożywieniem, (ok. 2 mg/dzień), są rozkładane w organizmie człowieka do nietoksycznych tiocyjanianów, **50-60 mg cyjanków jest dawką śmiertelną.**

Kwas cyjanowodorowy (HCN) i jego sole (sodowe, potasowe i amonowe) to tzw. cyjanki proste, które są bardzo toksyczne. Działanie ich polega na blokowaniu procesu oddychania na poziomie komórkowym. Cyjanki złożone (kompleksowe) są mniej toksyczne, ale też stanowią duże zagrożenie, bo w wodzie ulegają stopniowo przemianie do cyjanków prostych. Dopuszczalne stężenie cyjanków w wodzie pitnej wynosi 0,050 mg/L.

Fluorki występują w wodzie naturalnej, w pokładach geologicznych (fosforyty, apatyty), w glebie, w roślinach i żywych organizmach. Obecność fluorków w wodach może wynikać również ze źródeł przemysłowych: gazy, ścieki i odpady. Fluorki są wykorzystywane również do produkcji niektórych farmaceutyków.

Wpływ fluoru na zdrowie człowieka zależy od jego ilości: małe, do ok. 1 mg/L, hamują próchnicę zębów u dzieci i dorosłych, większe powodują cętkowanie szkliwa, stężenia 3-6 mg/L powodują fluorozę, która może prowadzić do zmian kostnych i kalectwa. Spożywanie dużych dawek fluoru powoduje nieżyty żołądkowo-jelitowe, zapalenie nerek, uszkodzenie wątroby i mięśnia sercowego.

Wody pobierane na terenach Polski do celów wodociągowych zawierają z reguły poniżej 0,5 mg fluoru w 1 litrze i są fluorkowane do poziomu uznanego za najkorzystniejszy dla zdrowia człowieka, czyli ok. 1 mg/L. Gdy woda zawiera większe ilości fluoru, należy je usuwać. **Dopuszczalna zawartość fluorków w wodzie pitnej wynosi 1,5 mg/L.**

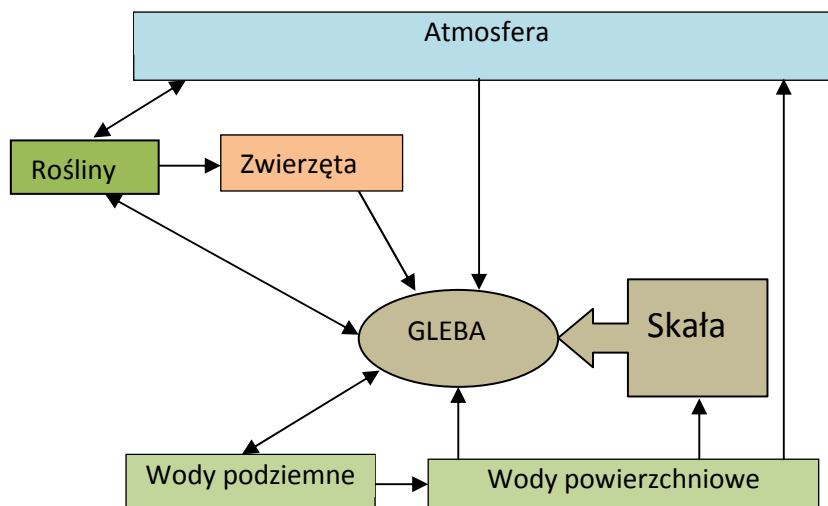
Siarczany(VI) w wodach naturalnych mogą występować nawet do kilku g/L. Pochodzą z pokładów geologicznych i gleby. Ścieki z fabryk kwasu siarkowego(VI), sztucznego włókna wiskozowego, z farbiarni, wody kopalniane (rozkład pirytu) mogą powodować zwiększenie zawartości siarczanów(VI) w zbiornikach wodnych. Duże stężenia siarczanów(VI) powodują korozję betonu, w instalacjach

przemysłowych oraz w kotłach grzewczych wytwarzają twarde kamień.

Nadmiar siarczanów(VI) w wodzie do picia powoduje gorzki smak, siarczan magnezu może wywoływać biegunkę, zwłaszcza w początkowym okresie używania. **Dopuszczalna wartość siarczanów(VI) w wodzie do picia ze względów organoleptycznych i fizyko-chemicznych wynosi 250 mg/L.**

5. Gleby i ziemia

Powierzchniowa część litosfery (pedosfera), stykająca się z hydrosferą, atmosferą i biosferą, ulega ciągłym przemianom (rysunek 3.). Podczas procesów wietrzenia skał, mechanicznych, biologicznych i chemicznych, formuje się warstwa o rozdrobnieniu i składzie mineralogicznym, zależnym od skały macierzystej. Z rozdrobnionej warstwy, pod wpływem: klimatu, ukształtowania terenu, wody, organizmów żywych, czasu i działalności człowieka formuje się gleba. Skład gleby zależy od obiegu materii geologicznej i biologicznej, ale podstawowym składnikiem gleby jest skała macierzysta i stanowi nawet do 99 % jej masy. Resztę stanowi, specyficzna dla gleby, materia organiczna w mniejszym lub większym stopniu zmodyfikowana przez człowieka.



Rysunek 3. Wzajemna zależność między glebą a hydrosferą, atmosferą i biosferą

W wyniku oddziaływania pedosfery z hydrosferą, atmosferą i biosferą tworząca się gleba jest układem trójfazowym i składa się z fazy stałej, ciekłej i gazowej.

Faza stała gleby to część mineralna (skalanie, kwarc, krzemiany, węglany, miki) o różnym stopniu rozdrobnienia oraz część organiczna (5-15% objętości gleby).

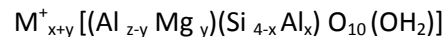
Na część mineralną składają się:

- **minerały pierwotne**, do których zalicza się zwietrzałe skały krystaliczne (żwir, piach), cechą minerałów pierwotnych jest brak zdolności sorpcyjnych (nie chłoną wody, nie pęcznieją),
- **minerały wtórne**, które odgrywają właściwą rolę w glebie.

Minerały wtórne są to najbardziej rozdrobnione skały występujące w postaci ilów i glin, do których należą kaolinit, montmorillonit i illit oraz różne bezpostaciowe tlenki.

Kaolinit to grupa polimorficznych odmian substancji o wzorze $Al_4(Si_4O_{10})(OH)_8$.

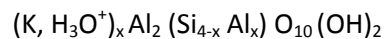
Ogólny teoretyczny wzór **montmorillonitu** to:



gdzie:

M^{+} - kation wymienny jednowartościowy.

Illity zwane też hydrofłuszczkami lub hydromikami mają ogólny wzór:



Wymienione minerały zalicza się do krzemianów warstwowych. Ich atomowe struktury składają się z elementów w formie czworościanu (warstwa tetraedryczna) i ośmiościanu (warstwa oktaedryczna). Warstwy tetraedryczne i oktaedryczne łączą się ze sobą w jednostki strukturalne zwane **pakietami**.

Część organiczna fazy stałej składa się z obumarłych, częściowo lub całkowicie rozłożonych tkanek roślinnych i zwierzęcych. Obumarłe części roślin i zwierząt oraz pochodzące z ich rozkładu węglowodany, białka, tłuszcze, węglowodory tworzą nieswoistą substancję organiczną (ok. 10%). Częściowy rozkład materii organicznej, w którym biorą udział organizmy glebowe nazywa się **humifikacją**. Produktem humifikacji jest bezpostaciowa substancja organiczna zwana **próchnicą glebową** lub **humusem**, który stanowi ok. 90% substancji organicznej gleby. Humus to mieszanina związków wielkocząsteczkowych o budowie cyklicznej, powiązanych przez atomy tlenu, azotu, grupy aminowe i inne. Cząsteczki o budowie cyklicznej zawierają łańcuchy boczne, na których znajdują się grupy hydroksylowe, karboksylowe, aminowe, sulfonowe i inne. W zależności od stopnia humifikacji związki humusowe różnią się budową i właściwościami. Wyróżnia się następujące grupy: kwasy huminowe, huminy i kwasy fulwowe.

Kwasy huminowe to polimeryczne związki o skomplikowanej budowie i dużej masie cząsteczkowej, nierozpuszczalne w wodzie, rozpuszczalne w roztworach alkalicznych, wykazujące bardzo duże zdolności wiązania wody i zdolności sorpcyjne.

Huminy są to substancje nierozpuszczalne w kwasach i zasadach tylko w cieczach organicznych.

Kwasy fulwowe (fulwokwasy) to grupa związków próchnicznych o prostszej i bardziej różnorodnej budowie oraz mniejszej masie cząsteczkowej od kwasów huminowych. Kwasy fulwowe dobrze rozpuszczają się w wodnych roztworach kwaśnych i alkalicznych.

Kwasy huminowe, huminy i kwasy fulwowe są to swoiste substancje próchniczne. Nieswoiste substancje próchniczne to np. cukry, lignina i inne. Średni skład próchnicy jest następujący: C - 58%, O - 28%, H - 4-5%, N - 1,5-7% oraz popiół - 2-8%.

Fazą ciekłą gleby jest woda, w której rozpuszczone są związki mineralne i organiczne – tzw. **roztwory glebowe**. Roztwory glebowe, **rzeczywiste i koloidalne**, stanowią 15-35% objętości gleby. Ilość roztworu glebowego zależy od klimatu, ukształtowania terenu oraz uziarnienia i porowatości gleby. Ze względu na rodzaj powiązania wody z glebą wyróżnia się:

- **wodę molekularną** (higroskopową i błonkową),
- **wodę kapilarną** (właściwą i przywierającą),
- **wodę wolną** (infiltracyjną i gruntowo-glebową).

Woda molekularna związana jest z cząstkami stałymi siłami elektrostatycznymi oraz przez hydratację kationów. Siły wiązania wody higroskopowej i błonkowej są różne. Ilość wody molekularnej

warunkuje skład granulometryczny, mineralny i chemiczny oraz ilość substancji organicznej. Najwięcej wody molekularnej występuje w glebach drobnoziarnistych, takich jak gliny ciężkie i ły.

Woda kapilarna zajmuje małe pory na skutek działania sił kapilarnych w glebie. Jej ilość zależna jest od rozmiarów przestrzeni kapilarnych i wysokości poziomu wody gruntowo-glebowej. Woda kapilarna występuje głównie w glebach średnioziarnistych, jak piaski gliniaste, pyły, gliny.

Woda wolna zajmuje większe pory i szczeliny w glebie i przemieszcza się w nich na skutek grawitacji. Woda infiltracyjna (przesiłekająca) występuje w glebie po dużych opadach atmosferycznych. Najwięcej wody wolnej zawierają gleby gruboziarniste, żwiry i piaski.

Fazą gazową gleby jest mieszanina gazów i pary wodnej. Fazę gazową gleby nazywa się **powietrzem glebowym**, jego skład różny jest od składu powietrza atmosferycznego i ulega dużym wahaniom. Powietrze glebowe składa się z następujących głównych składników: azot (N_2) – 70,80÷80,24 % obj., tlen (O_2) – 10,4÷20,7 % obj., ditlenek węgla (CO_2), 0,15÷0,65 % obj. oraz większa niż w powietrzu atmosferyczny ilość pary wodnej.

Wzajemny układ trzech faz gleby ulega w czasie zmianom z powodów naturalnych (procesów glebotwórczych) i ingerencji człowieka. Faza gazowa konkuruje z fazą ciekłą, gdyż obie zajmują przestrzeń porów gleby. Im więcej jest powietrza w glebie tym mniej wody i odwrotnie. Powietrze w glebie potrzebne jest do dostarczania tlenu korzeniom roślin oraz do przemian biologicznych. Faza ciekła potrzebna jest do wszystkich procesów zachodzących w glebie oraz wpływa na jej własności fizyczne.

5.1. Właściwości gleby i ziemi

Zjawiskiem powszechnie występującym w przyrodzie i jedynym w układzie ciała stałe (warstwa mineralna gruntu) – ciecz (roztwory glebowe) jest **wymiana jonowa**. **Reakcje jonowymienne polegają na wchłonięciu przez glebę określonej ilości jonów z roztworu glebowego z jednoczesnym przejściem z gruntu do roztworu równoważnej ilości innych jonów.** Reakcje wymiany jonowej zachodzą na skutek istnienia niezrównoważonych ujemnych i dodatnich ładunków elektrycznych na powierzchni minerałów. Defekty w sieci krystalicznej minerałów powodują ładunek, który jest stały natomiast na powierzchni materii organicznej, tlenków żelaza, glinu i krzemu czy na powierzchni krawędzi bocznych minerałów występuje ładunek zmienny. Ładunek może powstawać również w wyniku reakcji asocjacji-dysocjacji jonów, głównie jonów wodorowych, znajdujących się na powierzchni grup hydroksylowych. Wymiana jonów może zachodzić na powierzchni minerałów (kaolinit) lub wewnątrz, w przestrzeniach między pakietami lub w sieci krystalicznej (montmorillonity). Wymiana kationów zachodzi również w fazie organicznej, na skutek istnienia związków próchnicznych zawierających grupy karboksylowe ($-COOH$) i hydroksylowe ($-OH$) oraz inne, mające zdolność wiązania kationów. **Kationami, które najczęściej występują w gruntach i ulegają wymianie są Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , Na^+ i K^+ , natomiast anionami – SO_4^{2-} , Cl^- , PO_4^{3-} i NO_3^- .**

W minerałach ilastych ilość ładunków ujemnych jest większa niż dodatnich, dlatego wymiana anionów odgrywa drugorzędna rolę, w związku z tym, w ocenie właściwości gleby, badanie wymiany jonowej ogranicza się do kationów.

Oprócz jonów gleba może zatrzymywać molekuly, mikroorganizmy i drobne zawiesiny a intensywność tych procesów zależy od zjawiska zwanego ogólnie **sorpcyjnymi właściwościami gleb**. Te i inne właściwości gleby, jako biologicznie czynnej warstwy, wynikają: z zawartości i szybkości rozkładu materii organicznej, z zawartości i struktury frakcji ilastej, ze stosunku materii organicznej

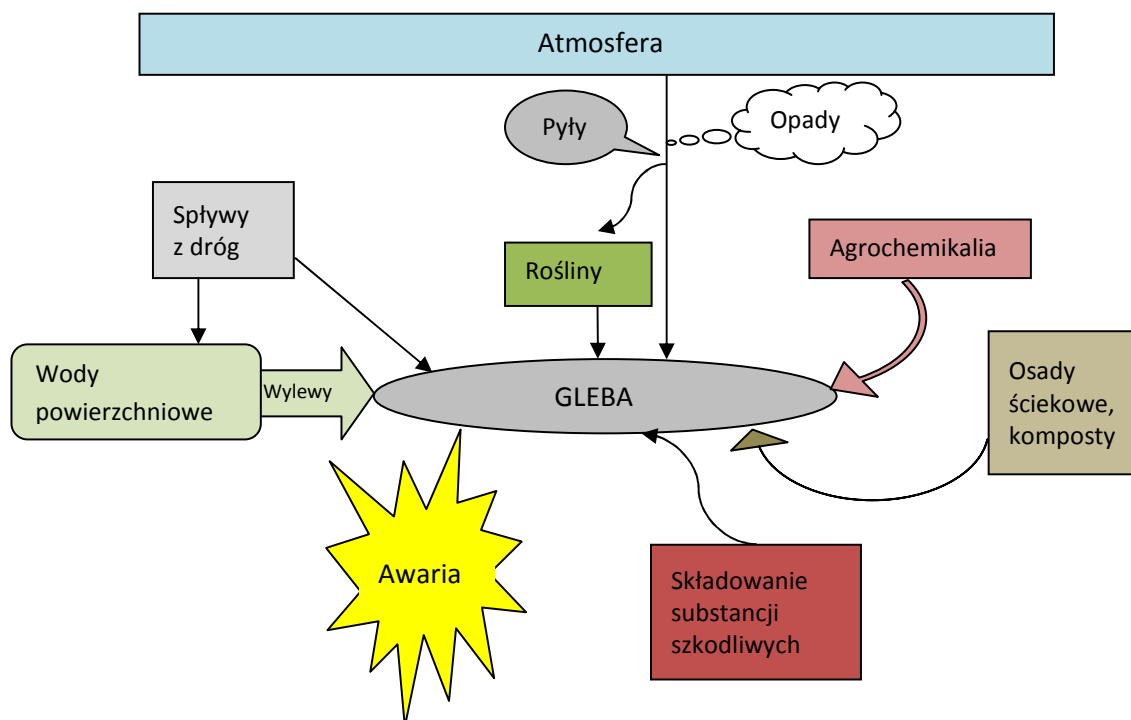
do mineralnej, z odczynu gleby i związanej z tym ilości wymiennych jonów zaadsorbowanych na cząstkach fazy stałej oraz z zawartości soli w roztworze glebowym. Na cechy te wpływają również rośliny, poprzez system korzeni i gromadzenie ściółki.

Dzięki swoim właściwościom gleba spełnia wiele funkcji decydujących o życiu na ziemi, z czego najistotniejszą jest funkcja produkcyjna. Gleba jest źródłem, magazynem i środowiskiem przyswajania składników pokarmowych. Gleba gromadzi wodę niezbędną do życia roślin, jest miejscem rozkładu resztek organicznych w procesie mineralizacji, zapewniając obieg pierwiastków w przyrodzie.

Ważną funkcją jest rola retencyjna gleby. Dzięki zdolności sorpcji i buforowania spełnia funkcję filtra i reaktora chemicznego i biologicznego dla substancji toksycznych i utrudnia ich migrację. **I wreszcie, do tej pory niezbyt doceniana, rola siedliskowa, czyli zależność od jakości gleby systemów nierolniczych, tworzących krajobraz.**

5.2. Źródła zanieczyszczenia gleb i ziemi

Główna część zanieczyszczeń gromadzi się w glebie, czasami nawet ponad 90 %. Drogami przedostawiania się zanieczyszczeń do gleb (rysunek 4) są głównie opady atmosferyczne i pyły, wylewy wód powierzchniowych, osady ściekowe i komposty, spływy z dróg, agrochemikalia, wieloletnie składowiska niebezpiecznych substancji oraz awarie instalacji przemysłowych czy środków transportu chemikaliów.



Rysunek 4. Drogi przedostawiania się zanieczyszczeń do gleb

Zanieczyszczenia, które przedostaną się do gleby, mogą ulegać sorpcji, mogą być pobierane przez rośliny, mogą ulegać rozkładowi mikrobiologicznemu, mogą być wymywane w głąb gleby (np. do wód gruntowych) lub ulatniać się z parą wodną. Procesy te zależą od chemicznej budowy zanieczyszczeń i od właściwości sorpcyjnych gleb.

Źródła zanieczyszczeń, jak i zanieczyszczenia mogą być punktowe lub rozproszone (obszarowe, liniowe). Wyemitowane zanieczyszczenia ze źródeł obszarowych są przenoszone często na duże odległości, ustalenie ich sprawcy jest wtedy utrudnione.

Do głównych antropogenicznych źródeł emisji zanieczyszczeń do gleby zalicza się:

- **procesy spalania paliw na potrzeby energetyczne,**
- **procesy produkcyjne w zakładach przemysłowych,**
- **transport.**

Wykaz źródeł zanieczyszczeń (emiterów) oraz substancji przez nie emitowanych (na podstawie dotychczasowych badań szczegółowych) zamieszczono w tabeli 8.

Tabela 8. Wykaz substancji zanieczyszczających, których stężenia najczęściej przekraczają standardy jakości gleby oraz ich źródła

Lp.	Źródła zanieczyszczeń	Rodzaj zanieczyszczeń
1.	Rafinerie ropy naftowej, zakłady gazyfikacji i upłynniania węgla, szyby naftowe, koksownie	Węglowodory alifatyczne, WWA, fenole, krezol
2.	Porty i instalacje portowe do obsługi paliw płynnych, substancji chemicznych, rud metali	Węglowodory alifatyczne, benzyny, WWA, pestycydy i inne zanieczyszczenia organiczne, metale ciężkie
3.	Zakłady chemicznej obróbki węgla	Węglowodory alifatyczne, WWA, fenole, krezole, cyjanki
4.	Zakłady tworzyw sztucznych (klejów, żywic i polimerów)	Ftalany, fenole, cykloheksan, węglowodory chlorowane
5.	Zakłady produkcji farb, rozpuszczalników i lakierów	Węglowodory aromatyczne, węglowodory chlorowane, cynk, ołów, chrom, bar
6.	Stacje i rozdzielnie elektroenergetyczne	Polichlorowane bifenyle
7.	Elektrownie konwencjonalne, elektrociepłownie, instalacje do spalania	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, metale ciężkie
8.	Huty żelaza, stali i metali nieżelaznych	Metale ciężkie, cyjanki, fenole, węglowodory alifatyczne, WWA
9.	Zakłady ceramiczne	Kadm, ołów
10.	Zakłady produkujące artykuły oświetleniowe i pomiarowe	Rtęć
11.	Galwanizernie	Metale ciężkie, cyjanki
12.	Spalarnie śmieci i inne zakłady likwidacji odpadów niebezpiecznych	Pestycydy, węglowodory alifatyczne i aromatyczne, WWA, metale ciężkie
13.	Zakłady produkcji pestycydów, magazyny pestycydów, mogilniki	Pestycydy
14.	Zakłady produkcji gumy	Ołów, tetrahydrofuran
15.	Garbarnie	Chrom
16.	Zakłady produkcji styropianu	Styren
17.	Stacje paliw, bazy transportowe, stacje obsługi pojazdów, parkingi	Węglowodory alifatyczne, oleje mineralne, benzyny, WWA
18.	Zakłady produkcji i naprawy środków transportu, produkcji silników	Węglowodory alifatyczne, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, metale ciężkie

5.3. Charakterystyka niektórych substancji zanieczyszczających gleby i ziemię

Azot mineralny w glebie występuje głównie w formie amonowej (NH_4^+) i azotanowej(V) (NO_3^-). Ilości i formy występowania azotu w glebie mogą być wskaźnikiem źródła skażenia. Np. **duża zawartość jonów amonowych w glebie świadczy o przedostaniu się do niej dużych ilości substancji organicznych pochodzenia zwierzęcego**. Natomiast **obecność jonów azotanowych(V) może świadczyć o czasie skażenia**. Jony azotanowe(V) powstają w ostatnim etapie procesu nityfikacji, ich obecność może świadczyć, że zanieczyszczenie nastąpiło dawno. Azotany(V) i azotany(III) zaliczane są do najgroźniejszych czynników, które poprzez środowisko mogą szkodzić zdrowiu ludzi i zwierząt. Są łatwo wyflukiwane z gleby, bo są rozpuszczalne w wodzie i jako aniony nie są silnie sorbowane przez glebę. Mogą przedostawać się do wód gruntowych i powodować ich zanieczyszczenie. Takie niebezpieczeństwo istnieje w pobliżu ferm zwierzęcych, gdzie stwierdzono wyższą zawartość azotanów(V) w głębszych warstwach gleby niż powierzchniowych. Wprowadzanie do atmosfery kwasotwórczych tlenków, np. tlenków azotu, powoduje kwaśne deszcze, które zakwaszają glebę. Również nawozy amonowe zakwaszają glebę.

Odczyn kwasowy wpływa na wiele procesów zachodzących w glebie, w tym na uwalnianie **glinu** z fazy stałej do roztworu glebowego. W kwaśnym środowisku glin występuje w postaci monomerycznej, np. $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$. Jest to postać najbardziej przyswajalna przez rośliny. Duże ilości glinu ograniczają przyswajanie wapnia przez blokowanie kanałów w błonach cytoplazmatycznych. Glin zakłóca również przyswajanie magnezu, przez co zostaje zakłócony stosunek potasu do wapnia z magnezem (glin nie blokuje przyswajania potasu), a to obniża wartość roślin paszowych. Duża ilość glinu w glebie powoduje wytrącanie się nierozpuszczalnych fosforanów glinu, przez co fosfor staje się niedostępny dla roślin. **W efekcie nadmiar glinu jest przyczyną upośledzenia wielu procesów w roślinach, przede wszystkim w systemie korzeniowym, co skutkuje zahamowaniem ich wzrostu (zamieranie lasów, obniżanie plonów)**.

W wyniku działalności człowieka **metale ciężkie** dostają się do gleby, kumulując się w jej warstwie powierzchniowej, gdyż przemieszczanie się ich w głąb gleb jest powolne. Nadmierna ilość metali ciężkich powoduje degradację chemicznej właściwości gleb. Jest również przyczyną zanieczyszczenia wód glebowo-gruntowych i powierzchniowych.

Metale ciężkie są pobierane przez rośliny zwłaszcza, jeśli występują w formie przyswajalnej, czyli rozpuszczalnej. Gromadzenie się ich w tkankach roślinnych zagraża zdrowiu ludzi i zwierząt. Zdecydowana większość metali ciężkich jest łatwo przyswajalna przy kwaśnym odczynie gleb, zmniejszenie przyswajalności następuje przy pH 6,5 – 7,5. Biodostępność metali zależy również od składu granulometrycznego i zawartości materii organicznej. Im więcej materii organicznej tym bardziej ograniczona rozpuszczalność metali i mniejsze ich przyswajanie. Kompleksy metali z materią organiczną to związki nierozpuszczalne lub trudno rozpuszczalne w wodzie. Metale ciężkie można podzielić na grupy wg intensywności bioakumulacji. Pierwsza grupa to pierwiastki występujące w wyższym stężeniu w glebie niż w biomacie, należą do nich Co, Pb, Ti i V. Drugą grupę stanowią Cu, Cr, Ni, Sr i Zn, które mimo występowania w podobnym stężeniu w glebie jak pierwiastków pierwszej grupy, kumulują się w roślinach do stężeń znacznie wyższych. Cd, Mo, Fe i Mn występują w niskich stężeniach w glebie, ale kumulują się w biomacie do stężeń znacznie przekraczających pierwotne w glebie. W glebie więcej jest żelaza niż manganu, ale w biomacie proporcje zmieniają się na korzyść manganu.

Metale ciężkie wiążą się z kompleksem sorpcyjnym gleby z różną siłą. Przykładem jest szereg metali wiązanych przez gleby lessowe: Pb > Cu > Cr > Zn > Ni > Co > Cd. Najsilniej wiązany jest ołów, najslabiej kadm, więc kadm łatwo jest uwalniany z kompleksu a to oznacza, że rośliny mogą pobrać za dużo kadmu nawet z gleby o małym (na poziomie tła geologicznego) stężeniu.

Metale ciężkie wprowadzane są do gleby, jako zanieczyszczenia nawozów mineralnych, przy czym bardziej wpływa rodzaj stosowanego nawozu niż dawka. **Najbardziej zanieczyszczone metalami są kolejno nawozy: fosforowe > wapniowe > potasowe > azotowe.** Nawozy fosforowe są również zanieczyszczone związkami **fluoru** i obok hut aluminium, fabryk kwasu fosforowego i nawozów fosforowych, hut żelaza i stali są przyczyną obecności fluoru w glebie. Pod wpływem działania mikroorganizmów i roślin mogą powstawać bardzo toksyczne i łatwo przyswajalne organiczne związki fluoru, które powodują zubożenie szaty roślinnej z powodu niskiego przyrostu i uszkodzeń tkanki roślinnej.

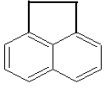
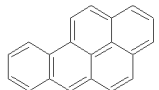
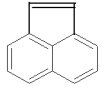
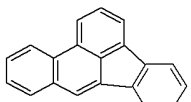
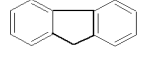
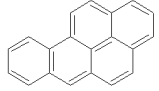
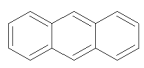
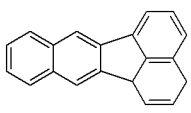
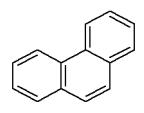
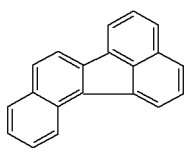
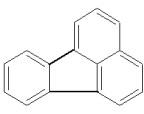
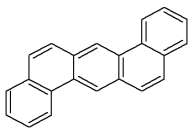
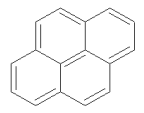
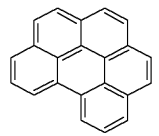
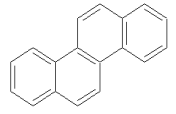
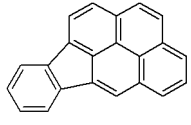
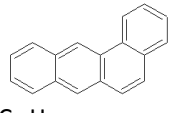
Zanieczyszczenie gleb siarką prowadzi do ich degradacji chemicznej, poprzez zakwaszenie oraz zwiększenie zawartości **związków siarki, głównie siarczanów(VI)**. Ilość związków siarki w glebie zwiększa się ze wzrostem zawartości materii organicznej.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) to obszerna grupa związków chemicznych o budowie pierścieniowej, charakteryzujących się zbliżonymi własnościami fizykochemicznymi. Choć znanych jest ponad 100 różnych WWA, najczęściej w środowisku występuje około 17 związków chemicznych. Struktury i nazewnictwo wybranych WWA przedstawiono w tabeli 9. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne należą do grupy najpowszechniej występujących, trwałych zanieczyszczeń organicznych. Głównymi źródłami WWA są: produkty niepełnego spalania paliw kopalnych, lotne pyły i popioły powstające ze spalania paliw lub utylizacji odpadów oraz przemysł ciężki związany z przetwarzaniem węgla i ropy naftowej (koksownie, rafinerie, huty żelaza, aluminium i miedzi, produkcja i wykorzystanie smoły i kreozotu). Szacuje się, iż szczególnie w okresie zimowym, poważnym źródłem WWA w środowisku jest tzw. niska emisja, pochodząca z indywidualnych źródeł ciepła. **Jednak najpoważniejszy udział w emisji WWA na terenach zurbanizowanych ma transport samochodowy.**

Wśród źródeł naturalnych wymienia się pożary lasów i wybuchy wulkanów oraz procesy przemiany materii bakterii, glonów i roślin wyższych. Biosynteza WWA prowadzi do tworzenia tych najbardziej groźnych dla zdrowia człowieka, ale w aspekcie ogólnego skażenia, ilości WWA pochodzące ze źródeł naturalnych i stanowiące "naturalne tło" są niewielkie w porównaniu z ilościami będącymi wynikiem działalności człowieka.

WWA pochodzące ze źródeł antropogenicznych nie występują w środowisku w postaci pojedynczych związków – zawsze tworzą mieszaniny wieloskładnikowe. Skład ilościowy i jakościowy tych mieszanin zależy od rodzaju materiału spalanego oraz warunków, w których zachodzi proces spalania.

Tabela 9. Struktura chemiczna i nazewnictwo niektórych WWA

Wielopierścieniowy węglowodór aromatyczny	Wzór strukturalny i sumaryczny	Masa cząsteczkowa	Wielopierścieniowy węglowodór aromatyczny	Wzór strukturalny i sumaryczny	Masa cząsteczkowa
Acenaften	 C ₁₂ H ₁₀	154,2	Benzo(a)piren	 C ₂₀ H ₁₂	252,3
Acenaftylen	 C ₁₂ H ₈	154,2	Benzo(b)fluoranten	 C ₂₀ H ₁₂	252,3
Fluoren	 C ₁₃ H ₁₀	166,2	Benzo(a)piren	 C ₂₀ H ₁₂	252,3
Antracen	 C ₁₄ H ₁₀	178,2	Benzo(k)fluoranten	 C ₂₀ H ₁₂	252,3
Fenantren	 C ₁₄ H ₁₀	178,2	Benzo(j)fluoranten	 C ₂₀ H ₁₂	252,3
Fluoranten	 C ₁₆ H ₁₀	202,3	Dibenzo(a,h)antracen	 C ₂₂ H ₁₄	278,4
Piren	 C ₁₆ H ₁₀	202,3	Benzo(ghi)perylen	 C ₂₂ H ₁₂	276,3
Chryzen	 C ₁₈ H ₁₂	228,3	Indeno(1,2,3-cd)piren	 C ₂₂ H ₁₂	276,3
Benzo(a)antracen	 C ₁₈ H ₁₂	228,3			

Najistotniejszym ze zdrowotnego punktu widzenia skutkiem oddziaływania WWA na organizm jest zdolność niektórych z nich do wywoływania zmian nowotworowych. Z tego względu WWA podzielono na nieaktywne, mniej aktywne i bardzo aktywne. **Liczne badania dostarczyły dostatecznej ilości danych, by WWA o ilości pierścieni powyżej 3 uznać za rakotwórcze i mutagenne. Do tych związków należą m.in. benzo(a)piren, dibenzo(a,h)antracen, benzo(a)antracen, benzo(b)fluoranten, czy dibenzo(a,e)piren.** WWA są metabolizowane przez mikrosomalne enzymy cytochromu P 450 do związków mogących tworzyć trwałe połączenia z DNA (np. epoksydy), co w konsekwencji może prowadzić do wysoce prawdopodobnego procesu nowotworzenia. W celu systematycznej oceny toksyczności wszystkich rakotwórczych WWA, wprowadzono tzw. **względny współczynnik rakotwórczości (k)**, odnoszący się do rakotwórczości benzo[a]pirenu (BaP), dla którego przyjęto wartość równą 1.

Obecnie, jako miarę narażenia na wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, przyjmuje się wskaźnik będący sumą iloczynów stężeń 9 WWA i ich względnych współczynników rakotwórczości (tabeli 10).

WWA emitowane z różnych źródeł ulegają stopniowej dystrybucji w środowisku, gdzie ostatecznie deponowane są w glebach (90%) oraz, ze względu na bardzo słabą rozpuszczalność w wodzie, w osadach dennych (9%). Oprócz mokrej i suchej depozycji WWA (*patrz: Monitoring jakości powietrza*), związki te trafiają do gleby razem z wodami spływnymi. Wody spływne wymywają np. nawierzchnię dróg, na których znajdują się duże ilości WWA pochodzące: ze spalin samochodowych, ze ścierania opon gumowych przy hamowaniu i z samego asfaltu bogatego we frakcje węglowodorów aromatycznych.

Dodatkowym źródłem są także niekontrolowane zrzuty ścieków przemysłowych i bytowo-gospodarczych a także odcieki ze składowisk odpadów.

Charakterystyka pozostałych zanieczyszczeń gleby: nieorganicznych (metale ciężkie, azotany(V) i azotany(III), chlorki, fluorki, cyjanki i siarczany(VI)) i organicznych (BTEX, PCB, pestycydy, fenole) jest umieszczona w rozdziałach dotyczących zanieczyszczenia powietrza i wód.

Tabela 10. Względny współczynnik rakotwórczości dziewięciu najbardziej toksycznych WWA

Lp	Substancja	Względny współczynnik rakotwórczości k
1.	Dibenzo(a,h)antracen	5
2.	Benzo(a)piren	1
3.	Benzo(a)antracen	0,1
4.	Benzo(b)fluoranten	0,1
5.	Benzo(k)fluoranten	0,1
6.	Indeno(1,2,3-c,d)piren	0,1
7.	Antracen	0,01
8.	Chryzen	0,01
9.	Benzo(g,h,i)perylene	0,01

6. Literatura

1. Dobrzański, B.; Zawadzki, S. *Gleboznawstwo*; Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne: Warszawa, 1981.
2. Dojlido, J. (red.) *Fizyko-chemiczne badanie wody i ścieków*; Wydawnictwo "Arkady": Warszawa, 1999.
3. Grabowska- Olszewska, B. (red.) *Metody Badań gruntów spoistych*; Wydawnictwo Geologiczne: Warszawa, 1980.
4. Kocjan, R. (red.) *Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL: Warszawa, 2000; Tom 2.
5. Myślińska, E. *Badania laboratoryjne gruntów*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2001.
6. Myślińska, E. *Grunty organiczne i laboratoryjne metody ich badania*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2001.
7. Namieśnik, J. (red.) *Metody instrumentalne w kontroli zanieczyszczeń środowiska*; Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej: Gdańsk, 1992.
8. Namieśnik, J.; Jamrógiewicz, Z. (red.) *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1998.
9. Pansu, M.; Gautheyrou, J. *Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods*, Springer, 2006.
10. Staszewski, R. (red.) *Kontrola chemicznych zanieczyszczeń środowiska, Podstawy teoretyczne z ćwiczeniami laboratoryjnymi*; Politechnika Gdańska: Gdańsk, 1990.
11. Szczepaniak, W. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1996.
12. Szczepaniec – Cięciak, E.; Kościelniak, P. *Chemia środowiska, ćwiczenia i seminaria*; Uniwersytet Jagielloński: Kraków, 1999.
13. Beker-Jaworska, E.; Szostak, B. *Acta Agrophysica* **2006**, 8, 299-308.
14. Łabętowicz, J.; Rutkowska, B.; Szulc, W.; Sosulski, T. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin – Polonia*; **2004**, LIX, (2), sectio E.
15. Ciba, J.; Skwira, M.; Zołotajkin, M. *Ochrona środowiska i zasobów naturalnych*; **2007**, 31; www.ios.edu.pl/pol/nr31.pdf
16. Kabata-Pendias, A.; Piotrowska, M.; Motowicka-Terelak, T.; Maliszewska-Kordybach, B.; Filipiak, K.; Krakowiak, A.; Pietruch, C. *Podstawy oceny chemicznego zanieczyszczenia gleb. Metale ciężkie, siarka i WWA*; PIOŚ/IUNG Puławy, Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa, **1995**; www.gios.gov.pl/zalaczniki/artykuly/monitoring_20100715.doc
17. Kmiecik, E. *Ocena stanu chemicznego wód podziemnych w oparciu o wyniki badań monitoringowych*; Krakow 2009; home.agh.edu.pl/~ek/b/ocena_stanu.pdf
18. Sady W., Smoleń S., *Wpływ czynników glebowo-nawozowych na akumulację metali ciężkich w roślinach, X Ogólnopolskie Sympozjum Naukowe „Efektywność stosowania nawozów w uprawach ogrodniczych”*, Kraków, 17-18 czerwca 2004; www.up.poznan.pl/ogrodnictwo/.../36REFERAT%20Sady.pdf
19. Stuczyński, T.; Siebielec, G.; Maliszewska-Kordybach, B.; Smreczek, B.; Gawrysiak, L. *Wyznaczenie obszarów, na których przekroczone są standardy jakości gleb*, Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa 2004; www.gios.gov.pl/download.php?f=787
20. Usowicz, B.; Hajnos, M.; Sokołowska, Z.; Józefaciuk, G.; Bowanko, G.; Kossowski, J. *Acta Agrophysica. Rozprawy i Monografie*; Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN: Lublin, 2004, 3; users.ipan.lublin.pl/~usowicz/pdf/Acta103.pdf

21. Monitoring chemizmu gleb orných Polski w latach 2005-2007, *Inspekcja Ochrony Środowiska, Biblioteka Monitoringu Środowiska*, Warszawa, 2008;
www.gios.gov.pl/zalaczniki/artykuly/monitoring_20100715.doc
22. Raport o stanie środowiska w województwie zachodnio-pomorskim w latach 2006-2007;
www.wios.szczecin.pl/bip/chapter_16003.asp?soid=7FDE60207E8B43179DB15FA0D440E26B
23. Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (Dz. U. Nr 165, poz. 1359).
24. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U. Nr 61, poz. 417).
25. Stan zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego w Aglomeracji Gdańskiej i Tczewie w roku 2008 i informacja o działalności Fundacji ARMAAG; www.armaag.gda.pl
26. www.merck.pl

IV. Pobieranie i wstępne przygotowanie próbek do analizy

1. Pobieranie próbek do analizy

1.1. Zasady pobierania próbek

Pobieranie próbek jest procesem o zasadniczym znaczeniu dla poprawności wyników badań, wymagającym odpowiedniego zaprogramowania i realizacji. Wyróżnia się trzy podstawowe cele pobierania próbek:

- kontrolę jakości w celu stwierdzenia zgodności badanych parametrów z obowiązującymi wymaganiami, której wyniki służą do podejmowania doraźnych i krótkoterminowych decyzji,
- charakterystykę prób do wyznaczania lub prognozowania zmienności parametrów jakościowych prób w czasie oraz do długookresowych potrzeb kontrolnych,
- identyfikację źródeł lub przyczyn zmian jakości oraz ustalenia okresowości ich pojawiania.

Analityk musi sprecyzować cel badań, który w znacznym stopniu determinuje lokalizację miejsc poboru próby, czas trwania, częstotliwość i technikę pobierania, sposób postępowania z pobranymi próbkami oraz wybór metod analizy.

Wyniki analizy badanego obiektu muszą odzwierciedlać dokładnie tę jego cechę, która jest przedmiotem badania. Ponieważ całego obiektu przeważnie nie można analizować, pobiera się porcję materiału z badanego obiektu – próbkę. Próba musi być tak pobrana i wyselekcjonowana, aby możliwie najdokładniej reprezentować cechy badane obiektu w odniesieniu do postawionego problemu, stąd pojęcie próbki reprezentatywnej. Próbka powinna być reprezentatywna w czasie i przestrzeni, czyli odzwierciedlać wszystkie rodzaje zanieczyszczeń, występujące w określonym czasie oraz przestrzeni obiektu. W przypadku niejednorodności obiektu, wymagane jest pobieranie wielu próbek w różnych jego punktach.

Pobieranie próbki reprezentatywnej jest pierwszym etapem procesu analitycznego oraz etapem, którego nie można zweryfikować w kolejnych jego etapach.

Aby próbka była reprezentatywna musi mieć następujące cechy:

- powinna być pobierana systematycznie, w określonych, wcześniej zaplanowanych dla procesu analitycznego punktach (miejsce pobierania próbki poza tym, że powinno być reprezentatywne dla całej emisji zanieczyszczeń, powinno być łatwo dostępne, z możliwością pomiarów, np. przepływu wody lub in., częstotliwość i czas pobierania powinny być zgodne z planem, ustalonym w oparciu o ryzyko przekroczenia wartości dopuszczalnych, zmienność szybkości przepływu zanieczyszczeń, ich skład oraz zmiany wielkości emisji),
- powinna być pobrana zgodnie ze stosowną procedurą pobierania prób oraz w sposób bezpieczny dla personelu i środowiska (procedury i instrukcje powinny być przejrzyste, personel przeszkolony, z pozwoleniem na pracę w warunkach poboru prób, zabezpieczony w ubrania ochronne i odpowiedni sprzęt oraz blokady, jeśli tego wymaga stosowana procedura),
- nie może być narażona na przypadkowe zanieczyszczenia, ani zanieczyszczenia pomiędzy próbkami,

- **musi być umieszczona we właściwym pojemniku na próbki i dokładnie zabezpieczona** przed: utratą lotnych składników, reakcjami ze składnikami powietrza (O₂, CO₂, H₂O), rozkładem próbki pod wpływem promieniowania UV, degradacją próbki, zmianami wywołanymi efektem katalitycznym.

Właściwe wykonanie procesu pobierania próbek wg zaleceń Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska EPA (ang. *Environmental Protection Agency*) składa się z siedmiu kroków. Pierwszym jest **zapoznanie się z planem analizy i procedurą pobierania próbek**, następnym krokiem jest **przygotowanie potrzebnego sprzętu i wyposażenia** oraz **identyfikacja miejsc poboru próbek**. Próbkę pobiera się dopiero po pełnej identyfikacji punktów poboru. Sposób **pobierania** musi być odpowiedni dla rodzaju **próbki, zgodny z zasadami zapewnienia i kontroli jakości**. Następnie **kompletuje się dokumentację miejsc poboru**. Próbkę **umieszcza się w odpowiednich pojemnikach z etykietami**, na których musi się znaleźć jednoznaczny numer identyfikacyjny próbki oraz może, dla poprawy wiarygodności i wykrywalności, data, czas i miejsce pobierania próbki i in. Od momentu pobrania, **w transporcie do laboratorium, przechowywaniu i przeprowadzaniu analizy, próbce musi towarzyszyć dokument zawierający podstawowe oraz bardziej szczegółowe dane:**

- **jednoznaczny numer identyfikacyjny próbki,**
- **miejsce pobrania próbki,**
- **data i dokładny czas pobierania próbki,**
- **liczba pojemników, do których pobrano próbkę,**
- **skład matrycy (główne składniki),**
- **sposób utrwalenia próbki,**
- **sposób transportu i przechowywania przed dostarczeniem do laboratorium,**
- **wymagany zakres analizy,**
- **protokół pobrania próbki wraz ze schematem obróbki wstępnej przeprowadzonej na miejscu pobrania,**
- **dane personalne osoby pobierającej próbkę,**
- **inne, istotne dla procesu analitycznego szczegóły.**

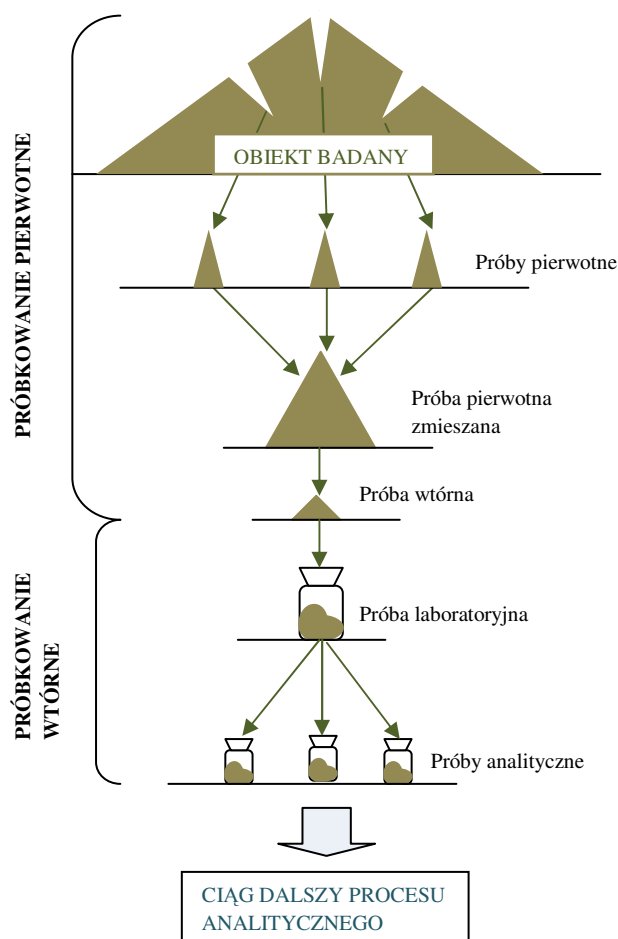
Dokumentacja miejsc poboru oraz wszystkie wymienione informacje o próbce powinny towarzyszyć próbce w czasie całego procesu analitycznego, zgodnie z systemem **Kontroli Pochodzenia Produktu** (ang. *Chain of Custody, CoC*), zapewniającym śledzenie również wstecz całego procesu, od wyniku do miejsca poboru próbki. **W procesie analitycznym nie należy uwzględniać próbek, dla których odpowiednie dane nie są dostępne lub nie mogą być określone.**

Niezależnie od sposobu pobierania próbek nawet najbardziej poprawnego, próbka różni się składem od obiektu badanego. Różnica wynika z heterogeniczności strukturalnej materiału badanego, wynikającej z właściwości składników, na którą analityk nie ma wpływu oraz z heterogeniczności przestrzennej materiału, którą można zredukować poprzez dokładne mieszanie. Różnica między składem próbki a składem obiektu badanego nosi nazwę **błędu pobierania próbki**.

Rozmieszczenie punktów poboru prób dla celów monitoringu środowiska uzależnione jest od obiektów badań i ich rozmieszczenia oraz sposobu przenoszenia się i gromadzenia zanieczyszczeń.

Mogą to być miejsca **punktowe**, np. miejsce wypływu ścieków z rur odprowadzających, albo **obszarowe**, np. teren wokół zakładu przemysłowego lub jezioro o dużej zlewni. **Pierwszym etapem jest nałożenie na badany obszar siatki współrzędnych i podzielenie go na regularne obszary mniejsze tak, aby dokładnie opisać miejsce poboru próby i umożliwić łatwy sposób przemieszczania się do następnego punktu poboru.**

Ogólną procedurę poboru próbek przedstawiono na rysunku 1. Z badanego obiektu pobiera się losowo próbki pierwotne. Liczba próbek pierwotnych zależy od heterogeniczności badanego obiektu, im wyższy jej stopień tym większa liczba próbek pierwotnych. Próbkowanie pierwotne odbywa się poza laboratorium. Do próbkowania pierwotnego należą również czynności, odbywające się również poza laboratorium, a prowadzące do uśrednienia prób pierwotnych i zmniejszenia do wielkości nadającej się do przeniesienia do laboratorium. W ten sposób powstaje próbka wtórna, którą w laboratorium poddaje się uśrednianiu, uzyskując próbki laboratoryjne. Próbkę laboratoryjną odpowiednio rozdrabnia się (homogenizuje) i odważa, uzyskując kilka równoległych próbek analitycznych, poddawanych procesowi analitycznemu.



Rysunek 1. Procedura poboru próbek

Obiekty badań analitycznych, jakimi są próbki środowiskowe wykazują dużą różnorodność, określaną przez stan skupienia, skład fazowy, jednorodność, wielkość, twardość, trwałość, lotność i inne. **Cztery podstawowe typy próbek środowiskowych: woda, powietrze, gleba i materiały biologiczne**

przedstawiono w tabeli 1. Próbkę środowiskowe mogą być sypkie i w kawałkach, maziste i ciastowate, ciekłe, ciekłe w postaci filmu, zawiesiny, gazowe, aerozole i pyły. Poza tym próbki mogą być żrące, drażniące oraz toksyczne. Właściwości zanieczyszczeń oraz stan skupienia próbek wymuszają odpowiedni sposób postępowania i stosowania odpowiednich przyrządów i urządzeń, zabezpieczających z jednej strony poprawność pobierania próbek a z drugiej strony bezpieczeństwo personelu i środowiska.

Próby powinny być pobierane do właściwych naczyń, niepowodujących kontaminacji próby, adsorpcji czy katalitycznych przemian analitu. Wielkość próbki zależy od rodzaju i liczby przewidywanych do wykonania badań (oznaczeń) oraz rodzaju stosowanych metod analitycznych i powinna umożliwić przynajmniej dwukrotne powtórzenie każdego z planowanych oznaczeń.

Zasady pobierania próbek są dostosowane do obiektu badań i określone normami lub rozporządzeniami ministra.

Tabela 1. Podstawowe rodzaje próbek środowiskowych

Próbki środowiskowe			
Woda	Gazy	Próbki stałe	Materiały biologiczne
Powierzchniowa	Atmosferyczne	Gleba	Żywność
Podziemna	Górnych warstw atmosfery	Osady ściekowe	Odżywki
Opadowa	Wewnętrzne (pomieszczenia)	Osady denne	Leki
Wodociągowa	Na stanowiskach pracy	Pyły (z elektrofiltrów)	Kosmetyki
Mineralna (głębina)	Z kominów gazów odlotowych	Pyły lotne	Tkanki roślinne
Energetyczna (kotłowa)	Spalinowe	Ściółka leśna	Tkanki zwierzęce
Przemysłowa	Z instalacji przemysłowych	Odpady niebezpieczne	Płyny ustrojowe
Ścieki przemysłowe	Atmosfera specjalna (okręty podwodne)	Odpady przemysłowe	
Ścieki komunalne	Wydechane przez człowieka	Odpady komunalne	
Film powierzchniowy (rozlewy związków ropopochodnych)	Z miejsc trudno dostępnych i niebezpiecznych	Popioły	
		Śnieg i lód	

1.2. Sposoby pobierania próbek gazowych

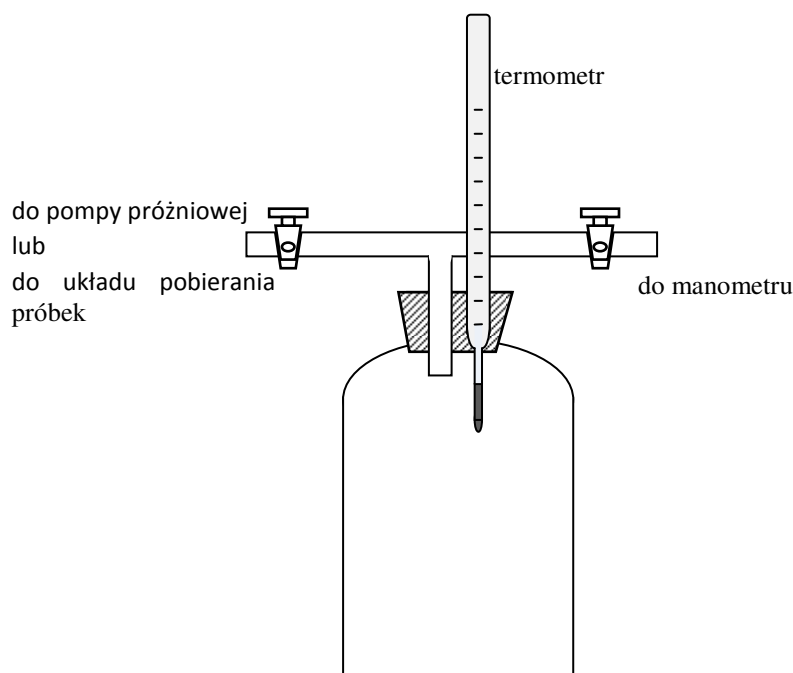
Anality oznaczane w próbkach gazowych można podzielić na **gazowe, aerozole i stałe**, na **organiczne i nieorganiczne** lub na **składniki o różnej lotności**. Do gazów i par należą gazowe składniki nieorganiczne, gazowe związki organiczne, pary związków organicznych (średnio i bardzo lotnych), nietlotne związki organiczne (zawieszony), substancje zaadsorbowane na powierzchni organiczne i nieorganiczne.

Sposoby pobierania próbek gazowych mogą być **manualne i automatyczne**. Metody automatyczne połączone są z jednoczesną analizą gazu (analyzer gazowy). Metody manualne dzieli się na **sedymencyjne, izolacyjne i aspiracyjne**.

Metody sedymencyjne stosowane są głównie do pomiaru opadu pyłu i polegają na swobodnym osadzaniu się na płycie osadczą o określonych i znanych wymiarach w czasie trwania pomiaru.

W **metodach izolacyjnych** próbka gazowa pobierana jest do pojemnika i transportowana do laboratorium. Jeśli pobierany gaz jest pod **ciśnieniem wyższym od atmosferycznego**, wystarczy pojemnik gazowy podłączyć do punktu poboru, przepłukać 10-krotną objętością pojemnika pobieranym gazem, napełnić pojemnik i zamknąć.

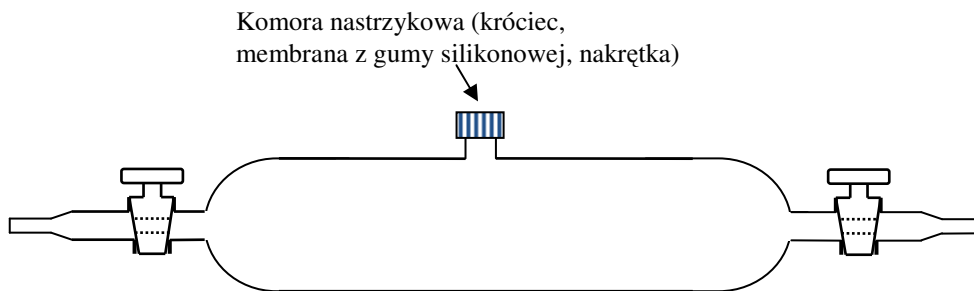
Gdy pobierany gaz jest pod ciśnieniem atmosferycznym stosuje się pojemniki **próżniowe** lub zasysa gaz do pojemnika przez wypływającą z niego ciecz. Pojemniki próżniowe to zakończone zatopioną kapilarą szklane **ampułki gazowe**, z których uprzednio odpompowano powietrze. Pojemniki próżniowe nadają się do pobierania w warunkach terenowych, w miejscach trudno dostępnych oraz do pomiarów chwilowych. Po napełnieniu pojemnika koniec kapilary zamyka się kulką z wosku. Posługiwanie się pojemnikiem próżniowym jest bardzo wygodne, ale przygotowanie go do poboru gazu wymaga kilkukrotnego mycia, w tym roztworem KOH, długiego suszenia, przepłukiwania gazem obojętnym i odpompowywania dożądanego podciśnienia. Większe objętości gazów pobiera się do **butli próżniowych**. Zasada poboru jest taka sama jak w przypadku ampułki gazowej. Szklaną butlę próżniową przedstawiono na rysunku 2.



Rysunek 2. Butla szklana próżniowa do pobierania próbek gazowych

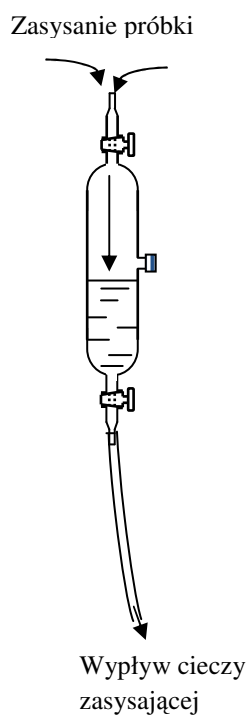
Butle lub ampułki próżniowe nazywane ewakuowanymi (ewakuowanie – odpompowywanie zawartości) wykonywane są ze szkła lub stali nierdzewnej.

Do zasysania gazu przez wypływającą z pojemnika ciecz (**technika zastąpienia cieczy przez gaz**) stosuje się **pipety gazowe**, szklane lub metalowe. Budowę pipety gazowej przedstawiono na rysunku 3.



Rysunek 3. Pipeta gazowa z komorą nastrzykową

Pipeta gazowa składa się z korpusu zaopatrzonego w dwa króćce oraz bardzo często w komorę nastrzykową, umożliwiającą pobieranie gazu strzykawką gazową. Długość pipety gazowej wynosi najczęściej 120 cm, a średnica 30 cm. Poniżej, na rysunku 4 przedstawiono zasysanie gazu przez ciecz wypływającą z pipety gazowej.



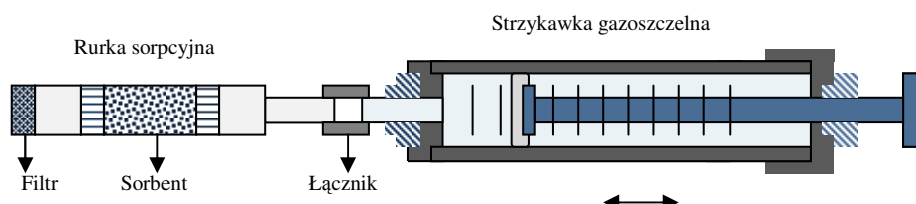
Rysunek 4. Pobieranie próbki gazowej techniką zastąpienia cieczy przez gaz

Coraz szersze zastosowanie do pobierania gazów znajdują worki z wielowarstwowego materiału, z takich tworzyw jak: teflon, Tedlar, PCV, Mylar i folia aluminiowa. Worki z tworzyw łatwo napełniają się i mogą mieć różną pojemność, od 1 do 100 L. Worki można stosować do pobierania pojedynczych prób lub sekwencyjnego pobierania wielu prób. Worki znajdują się w szczelnej obudowie metalowej, w której można wytworzyć podciśnienie i pobierać próby powietrza w terenie.

Pobieranie próbek metodami aspiracyjnymi polega na wymuszonym ruchu gazu przez pojemnik z cieczą absorbującą lub sorbentem stałym.

Aspirator, czyli urządzenie lub zestaw do pobierania próbek techniką aspiracyjną składa się z pojemnika wypełnionego substancją pochłaniającą, urządzenia do zasysania próbki i mierzenia jej objętości lub objętościowej prędkości przepływu.

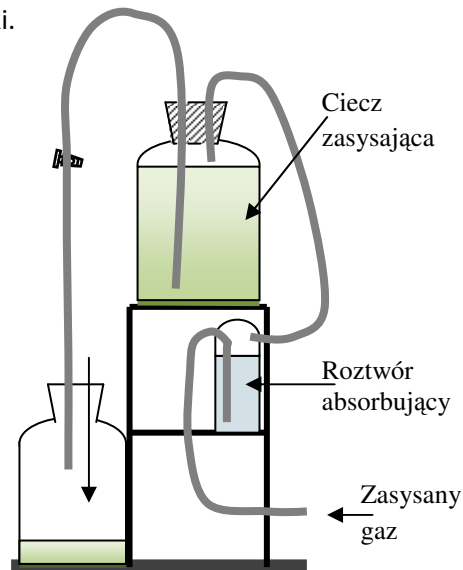
Najprostszym aspiratorem ręcznym jest **strzykawka gazoszczelna**, połączona z rurką wypełnioną sorbentem, którą można pobrać próbkę gazu bezpośrednio z punktu poboru. Sposób wykorzystania strzykawki gazoszczelnej do pobierania próbek gazowych pokazano na rysunku 5.



Rysunek 5. Wykorzystanie strzykawki gazoszczelnej do pobierania próbek gazowych

Pojemność strzykawki gazoszczelnej może wynosić nawet 1 L. Objętość pobieranej próbki gazowej będzie większa, jeśli ruchy tłoczkiem będą wielokrotne.

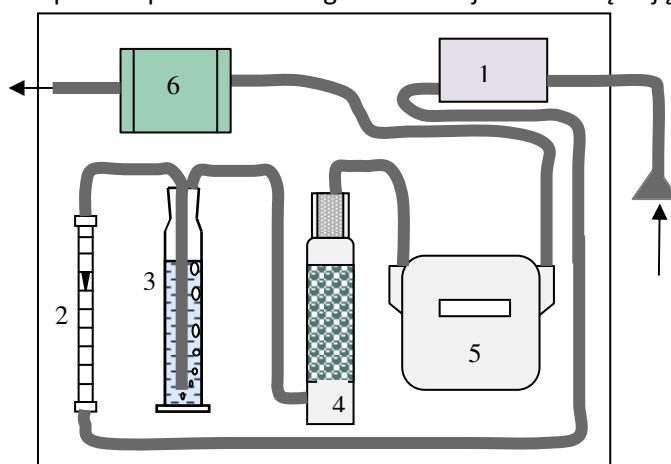
Innym prostym aspiratorem, niewymagającym mechanicznego pobierania próbki, jest **aspirator butelkowy**, którego zasadę działania pokazano na rysunku 6. Wypływająca przez zamknięcie syfonowe ciecz zasysa gazową próbkę poprzez płuczkę z substancją pochłaniającą (absorbującą). Zamiast płuczki może być rurka z sorbentem stałym. Urządzeniem zasysającym gaz może być pompka harmonijkowa ręczna lub nożna. Takie urządzenia stosowane są w wykrywaczach gazów, gdzie nie ma potrzeby pomiaru objętości próbki.



Rysunek 6. Aspirator butelkowy

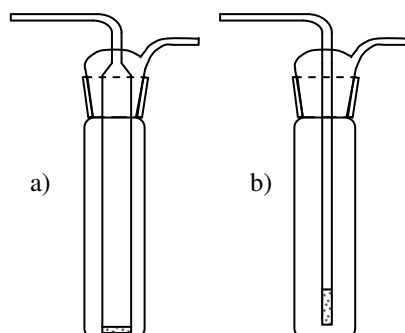
Schemat budowy **aspiratora z pompą, licznikiem gazu i przepływomierzem** przedstawiono na rysunku 7. Gaz zasysany przez pompę ssąco-tłoczącą (6) przechodzi przez filtr (1), rotametr (2), który wskazuje prędkość przepływu gazu a następnie przez **płuczkę (3) z cieczą absorbującą oznaczany składnik próbki gazowej**. Z absorbera gaz przechodzi przez osuszającą warstwę żelu krzemionkowego, umieszczonego w podłużnym naczyniu (4), a następnie przepływa przez licznik

gazu (5). Pozbawiony analitów gaz zostaje odprowadzony do atmosfery. Rotametr pozwala ustawić odpowiednią prędkość poboru próbki. Licznik gazu wskazuje całkowitą objętość pobranego gazu.



Rysunek 7. Schemat budowy aspiratora

W aspiratorze może znajdować się jedna lub zestaw ustawionych szeregowo **płuczek** lub **rurek sorpcyjnych**. Płuczki muszą zapewnić wystarczający kontakt gazu z cieczą absorbującą. Najczęściej stosowane są **płuczki z bełkotką wykonaną ze szkła porowatego** (rysunek 8). Wydajność płuczki można zwiększyć przez jej chłodzenie, zwiększenie wysokości słupa cieczy pochłaniającej lub zmniejszeniu objętości pobieranej próbki (mniejsze straty z powodu odparowywania absorbowanych składników i cieczy absorbującej).



Rysunek 8. Płuczki z bełkotką ze szkła porowatego, a) – płuczka Vaśaka z płaską przegrodą porowatą, b) – rurka zakończona szkłem porowatym

Rurki sorpcyjne można wykonać w laboratorium, stosując odpowiedni sorbent lub korzystać z gotowych, dostępnych komercyjnie. Wypełnienie rurek jak i ich rozmiar zależy od oznaczanej substancji i jej stężenia w badanym gazie. W tabeli 2 podano przykłady stosowanych sorbentów stałych.

Tabela 2. Charakterystyka wybranych sorbentów stałych stosowanych w analizie próbek gazowych

Nazwa	Typ	Charakterystyka
Węgiel aktywny z drzewa kokosowego, otrzymywany w procesie suchej destylacji drewna, z produktów przeróbki ropy naftowej	Węgiel aktywny	Bardzo rozwinięta powierzchnia, częściowo polarna o dużej pojemności
Carbosieve (S-II, S-III) Ambersorb (Xe-340, Xe-347) Carboxen (569, 663, 664)	Węglowe sita molekularne	Średnio rozwinięta powierzchnia, mała polarność
Carbotrap B Carbotrap C Carbotrap F	Węgiel grafityzowany	Mała powierzchnia właściwa, niepolarny
Chromosorb 102 Chromosorb 106 Porapak Q XAD-2 XAD-4	Polimery i kopolimery styrenu i diwinylobenzenu	Średnio rozwinięta powierzchnia, różna polarność
Tenax-GC Tenax-TA	Polimery tlenku fenylowo-fenylenowego	Mała powierzchnia właściwa, mała polarność

Aspiratory służą również do pobierania pyłów, wówczas zasysany gaz przechodzi najpierw przez zestaw filtrów o odpowiedniej średnicy porów. Filtry wykonane są zazwyczaj z **włókien celulozowo-szklanych, przed i po użyciu suszonych i kondycjonowanych** w odpowiednich warunkach oraz ważonych. **Stężenie pyłu w powietrzu oblicza się z różnicy mas filtrów i objętości pobranego powietrza.** Pyły są pobierane również w celu oznaczenia zaadsorbowanych na nich substancji.

1.3. Sposoby pobierania próbek wodnych

Sposoby pobierania próbek wodnych zależą od zakresu badań i miejsca poboru. Można je podzielić ze względu na rodzaj zbiornika wodnego, z którego woda jest pobierana. Rozróżnia się pobór próbek wody:

- ze zbiorników powierzchniowych, w tym próbek z różnych głębokości,
- z otworów wiertniczych (piezometrów),
- pobór wód deszczowych,
- pobór wód z nienasyconej strefy wodnej,
- pobieranie próbek filmu powierzchniowego,
- pobieranie pary i wody z obiegów zamkniętych,
- pobieranie próbek wody wodociągowej.

Rozróżnia się też pobieranie próbek **ręczne i automatyczne**, pobieranie próbek **dyskretnych i złożonych**.

Do pobierania wody ze **zbiorników powierzchniowych** służą **próbniaki, czerpaki** o różnych rozwiązaniach konstrukcyjnych. Próbniki są obciążone, aby pobierać próbki z różnych głębokości, zaczepione na linie i wyposażone w różne mechanizmy umożliwiające, np.:

- otwieranie zbiornika na odpowiedniej, żądanej głębokości,
- przepłukiwanie pojemnika wodą lub gazem obojętnym,
- zamykanie bez gazowej fazy nadpowierzchniowej pod powierzchnią wody,
- inne.

Przy pobieraniu wody ze zbiorników powierzchniowych nie ma ograniczeń wielkości próbki. Objętość pobieranej wody zależy głównie od zakresu analiz, jakie należy wykonać i zwykle wynosi 1 – 5 L. Większe objętości pobiera się dla oznaczenia wszystkich składników, ale takie analizy wykonywane są bardzo rzadko. Najczęściej oznacza się podstawowe parametry wody lub tylko te składniki, które mogą być niepożądane lub szkodliwe w danym przypadku.

Próbkę należy pobrać tyle, by starczyło na powtórzenie oznaczenia, ale nie więcej niż można oznaczyć w maksymalnym czasie ich przechowywania. Wodę zwykle pobiera się do zakręcanych butelek, dbając o ich całkowite napełnienie. Pozostawienie powietrza nad słupem cieczy może prowadzić do zmian oznaczanych substancji i fałszywych wyników.

W tabeli 3 wymieniono fizyczne i chemiczne procesy, jakie mogą zachodzić w próbkach wodnych i zmieniać jej skład pierwotny. Świadomość tych procesów pozwala właściwie zabezpieczyć próbkę i zminimalizować straty analitów.

Pobieranie wody z **otworów wiertniczych** bywa uciążliwe ze względu na małe średnice otworów (kilka cm) i głębokość do ok. 60 m. Woda musi być pompowana do próbniaka. **W czasie pompowania nie może być dużych zmian ciśnienia, by nie powodować odgazowywania próbki. Urządzenia do pobierania nie mogą zanieczyszczać wody.** Próbniki mogą być połączone z jednoczesnym zagęszczaniem próbki. W takim przypadku woda badana jest zasysana przez naczynie ze stałym sorbentem i po przepuszczeniu odpowiedniej ilości wody przez sorbent, próbnik jest wyciągany na zewnątrz a rurka z sorbentem wędruje do laboratorium.

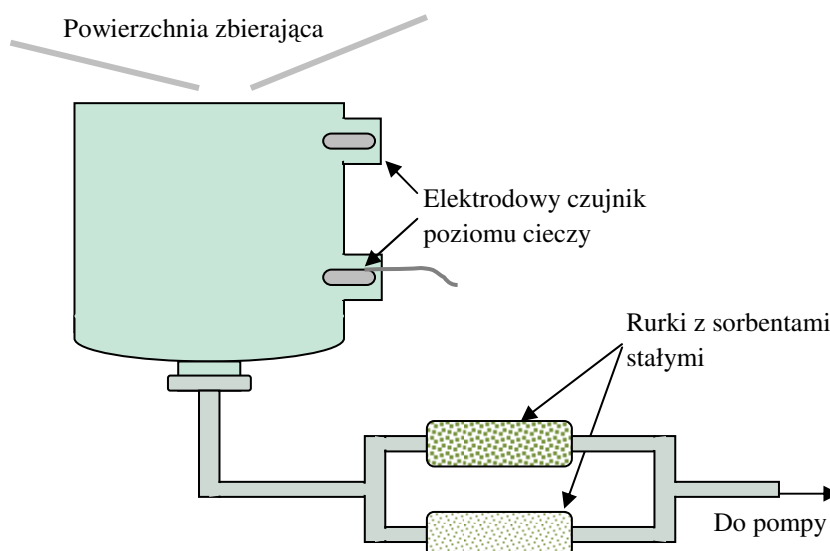
Urządzenie do zasysania wody z **nienasyconej strefy wodnej**, znajdującej się w porach gruntu, nazywa się **lizymetrem**. **Ruch wody z porów do pojemnika lizymetru jest wymuszony podciśnieniem, uzyskiwanym najczęściej z pompy perystaltycznej.** W dnie zbiornika znajduje się przewód odprowadzający połączony z pompą. Najprostszym lizymetrem jest rurka metalowa z niewielkimi otworami w ściankach, rozmieszczonymi w regularnych odstępach. Rurka na końcu jest zamknięta i połączona z dużą strzykawką, zakończoną szeroką (4-5 mm) końcówką. Urządzenie to może służyć do poboru próbki wody z porów gruntu (ok. 5 mL) jak również powietrza porowego z gleb i osadów.

Tabela 3. Fizyczne i chemiczne procesy zachodzące w próbkach wodnych

Proces	Skutki	Sposób minimalizacji strat
Odparowywanie	Strata lotnych organicznych składników	Właściwy sposób pobrania próbki, bez nadpowierzchniowej fazy gazowej w pojemniku, przechowywanie w chłodzie
Bakteryjna degradacja	Straty składników z powodu aktywności mikrobiologicznej	Zakwaszenie do pH < 2, przechowywanie w chłodzie
Reakcje chemiczne	Tworzenie trihalometanów w uzdatnianej wodzie z powodu obecności wolnego chloru	Dodatek tiosiarczanu sodu dla dezaktywacji aktywnego chloru, przechowywanie w chłodzie
Strącanie	Strata metali z powodu tworzenia się soli, tlenków, wodorotlenków o niskiej rozpuszczalności w wodzie	Zakwaszenie kwasem azotowym do pH < 2, przechowywanie w temperaturze pokojowej
Adsorpcja	Strata metali z powodu adsorpcji na powierzchni szkła	Używanie pojemników z tworzyw sztucznych, zakwaszenie kwasem azotowym do pH < 2
	Strata tłustych substancji z powodu adsorpcji na powierzchni tworzyw sztucznych	Używanie szklanych pojemników, zakwaszenie kwasem siarkowym do pH < 2
Absorpcja gazów atmosferycznych	Chemiczne utlenianie z powodu działania tlenu z powietrza	Bezzwłoczne i właściwe zabezpieczenie
	Zmiana pH i przewodności z powodu absorpcji ditlenku węgla	Polowe pomiary parametrów wody w trakcie poboru
Fotoutlenianie	Zmiany chemiczne z powodu reakcji fotochemicznych	Ochrona przed działaniem światła, używanie ciemnego szkła
Dyfuzja	Wprowadzenie kontaminantów ze stosowanych materiałów, np. rozpuszczalników z materiałów z PCV, plastyfikatorów, ftalanów z polietylenowych i polipropylenowych materiałów	Używanie obojętnych materiałów, np. teflonu, materiałów epoksydowych wzmocnionych włóknami szklanymi, mycie przed użyciem
Wymywanie	Wprowadzanie zanieczyszczeń ze stosowanych materiałów, np. metali ze stali, sodu, krzemu i boru ze szkła, ołowiu i cyny z lutu	Używanie obojętnych materiałów, kontrolowanie pH, ograniczanie czasu kontaktu ze stosowanymi materiałami

Zbieranie próbek **wody opadowej** odbywa się do otwartych zbiorników o określonej, znanej powierzchni. Zbieranie wody deszczowej dla oznaczenia substancji organicznych odbywa się z jednoczesnym zatężaniem analitów na sorbentach stałych. Schemat działania takiego próbnika przedstawiono na rysunku 9. Próbnik składa się ze zbiornika szklanego, do którego wpada woda deszczowa kierowana przez powierzchnię zbierającą, umieszczoną nad zbiornikiem. Pompa

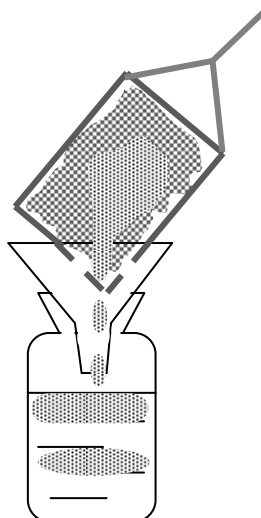
perystaltyczna zasysa wodę ze zbiornika przez rurki sorpcyjne. Poziom wody w zbiorniku jest kontrolowany przez czujnik elektrodowy, gdy woda osiągnie poziom czujki górnej, pompa zasysa wodę ze zbiornika ze zdwojoną szybkością.



Rysunek 9. Schemat budowy próbnika wód deszczowych do oznaczania związków organicznych

Pobieranie **warstwy powierzchniowej wody**, cienkiego filmu najbardziej zanieczyszczonej warstwy wody polega na zgarnianiu najczęściej za pomocą **próbnika Garreta**. Jest to siatka metalowa o wymiarach 50 x 65 cm umieszczona na ramie.

Po dotknięciu siatką wody, jej warstwa powierzchniowa o grubości 0,3 mm pozostaje na siatce, po czym jest zlewana do butli (rysunek 10).



Rysunek 10. Próbnik Garreta do pobierania próbek filmu powierzchniowego wody

Próbki pobierane z wody płynącej z określonym natężeniem przepływu (kanały, cieki wodne, rurociągi) są pobierane, jako próbki dyskretne, proste złożone, złożone proporcjonalnie i złożone sekwencyjnie. **Próbka dyskretna** jest pobierana jako całość, znajduje się w jednym pojemniku i odzwierciedla cechy wody w określonym czasie i miejscu (np. pH, tlen rozpuszczony). **Próbka prosta**

złożona składa się z wielu próbek o tej samej objętości, pobranych w jednakowych odstępach czasu i umieszczonych w jednym pojemniku.

Próbki **złożone proporcjonalnie** do przepływu są zbierane w tej samej objętości, do tego samego naczynia, ale odstępy pomiędzy kolejnymi próbkami są uzależnione od zmieniającego się natężenia przepływu. Uzyskuje się w ten sposób wartości średnie w czasie pobierania próbki. Próbki **złożone sekwencyjnie** składa się z indywidualnych próbek zbieranych do jednego pojemnika w określonym przedziale czasu, zwykle w ciągu 1 godziny. Seria pojemników reprezentuje próbki zebrane w kolejnych godzinach, dzięki czemu można obserwować zmiany zachodzące w czasie.

Próbki wody przeznaczone do analizy lotnych składników organicznych, semilotnych składników organicznych, całkowitej zawartości węglowodorów pochodzących z ropy naftowej, oleju i tłuszczu nigdy nie są składane.

1.4. Sposoby pobierania próbek stałych

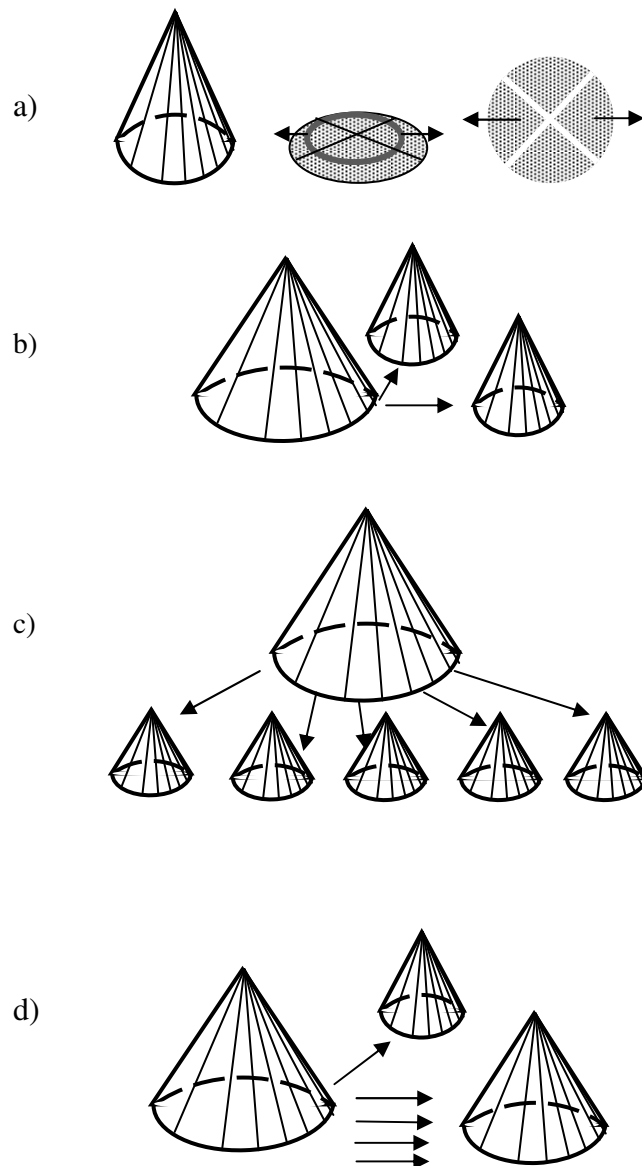
Sposoby i wielkość pobieranych próbek stałych zależą od konsystencji i rozdrobnienia. Najłatwiej jest pobierać materiał sypki (średnica ziarna < 3 mm). Służą do tego **rury zgłębnikowe**, umożliwiające pobranie próbki z określonej głębokości lub całego przekroju. Uśrednianie ze zmniejszaniem próbki ogólnej (pierwotnej) materiałów sypkich do próbki laboratoryjnej wykonuje się w różny sposób, np.:

- **techniką ćwiartkowania,**
- **techniką przemiennego usypywania dwóch stożków,**
- **techniką przesywania frakcjonowanego.**

Czynności wykonywane w wymienionych technikach przedstawione są na rysunku 11. W **technice ćwiartkowania** (rysunek 11a) najpierw usypuje się stożek, następnie spłaszcza go i dzieli na cztery równe części, z których dwie, wybrane losowo, odrzuca się. Stosując **technikę usypywania dwóch stożków** (rysunek 11b) najlepiej tak dobrać wielkość narzędzia do usypywania (łopaty), by porcje próbki podzielić na 100 jego zawartości (łopaty), następnie stożek wybiera się przypadkowo.

W **technice przesywania frakcjonowanego** (rysunek 11c) stożek pierwotny dzieli się na kilka równych stożków i jeden wybiera losowo. Technikę tę można uprościć, dzieląc pierwotny stożek na dwa, przy czym jeden stożek będzie usypany z, np. co piątej porcji, a drugi z pozostałych (rysunek 11d).

Wielkość pobieranej próbki zależy od stopnia rozdrobnienia. W tabeli 4 podano zalecane wielkości próbek pierwotnych w zależności od wielkości ziarna czy kawałków. Materiały ciastowate i półciekłe należy przed pobraniem dokładnie wymieszać albo pobrać z poszczególnych warstw, ustalając właściwy stosunek ilościowy. Materiał taki można pobierać metalową lub ceramiczną łopatką lub próbnikiem, zbudowanym z dwóch połówek rury, przeciętej wzdłuż i łączonej na zawiasach. Końce połówek rury są stożkowate, by łatwo wchodziły w pobierany materiał i zamykały wylot po złożeniu połówek i wyciąganiu próbki.



Rysunek 11. Techniki uśredniania ze zmniejszaniem próbki ogólnej, a) - technika ćwiartkowania, b) - technika przemiennego usypywania dwóch stożków, c) - technika przesypywania frakcjonowanego, d) - technika uproszczonego przesypywania frakcjonowanego

Tabela. 4. Zalecane wielkości próbek pierwotnych w zależności od granulacji materiału badanego

Wielkość cząstek [mm]	< 1	1 – 10	11 – 50	> 50
Minimalna masa próbki pierwotnej [g]	100	200	1000	2500

Pobieranie próbek gruntu wiąże się z ręcznym, za pomocą łopaty, odkrywaniem profilu glebowego. W tym celu należy wykopać dół glebowy (**odkrywkę glebową**), która powinna sięgać skały macierzystej, co nie zawsze jest osiągalne. Ze względów bezpieczeństwa, głębokość dołu nie może przekraczać wysokości osoby pobierającej próbkę. Odkrywka powinna być dobrze oświetlona. Pobieranie próbek z każdego profilu wykonuje za pomocą szpachelki. **Jeśli próbka ma mieć nienaruszoną strukturę, pobiera się ją cylinderkiem (metalowym lub z tworzywa), o znanej objętości (zwykle 100 cm³).** Gdy profile glebowe nie są widoczne, próbki pobiera się z następujących głębokości: 5-15 cm, 30-50 cm, 70- 90 cm i 130-150 cm.

Próbki o naruszonej strukturze, pobierane szpachelką, umieszczane są w woreczkach płóciennych lub polietylenowych. Cylinderki z próbką umieszczane są w kartoniku tekturowym.

Do wstępnego rozpoznania i pobrania próbki między odkrywkami lub z głębokości większej, niż to umożliwia odkrywka, grunt można pobierać wzdłuż profilu sondowania za pomocą **próbników puszkowych lub o charakterze świdra**. Próbnik puszkowy składa się z rury metalowej, wewnątrz której znajduje się plastikowa tuba (puszka). Próbnik posiada końcówki utrzymujące szczelność w trakcie wciskania w ziemię. Po osiągnięciu odpowiedniej głębokości, zostaje on otwarty, a wbijanie próbника w głąb gruntu powoduje wypełnianie tuby wewnętrznej. Po pobraniu próbki, wypełnioną tubę wymienia się na pustą i wykonuje następny pobór. **Próbki pobrane za pomocą próbników mają strukturę naruszoną.**

Pobieranie **próbek gleby z warstwy ornej** wykonuje się wg schematu przedstawionego na rysunku 12.

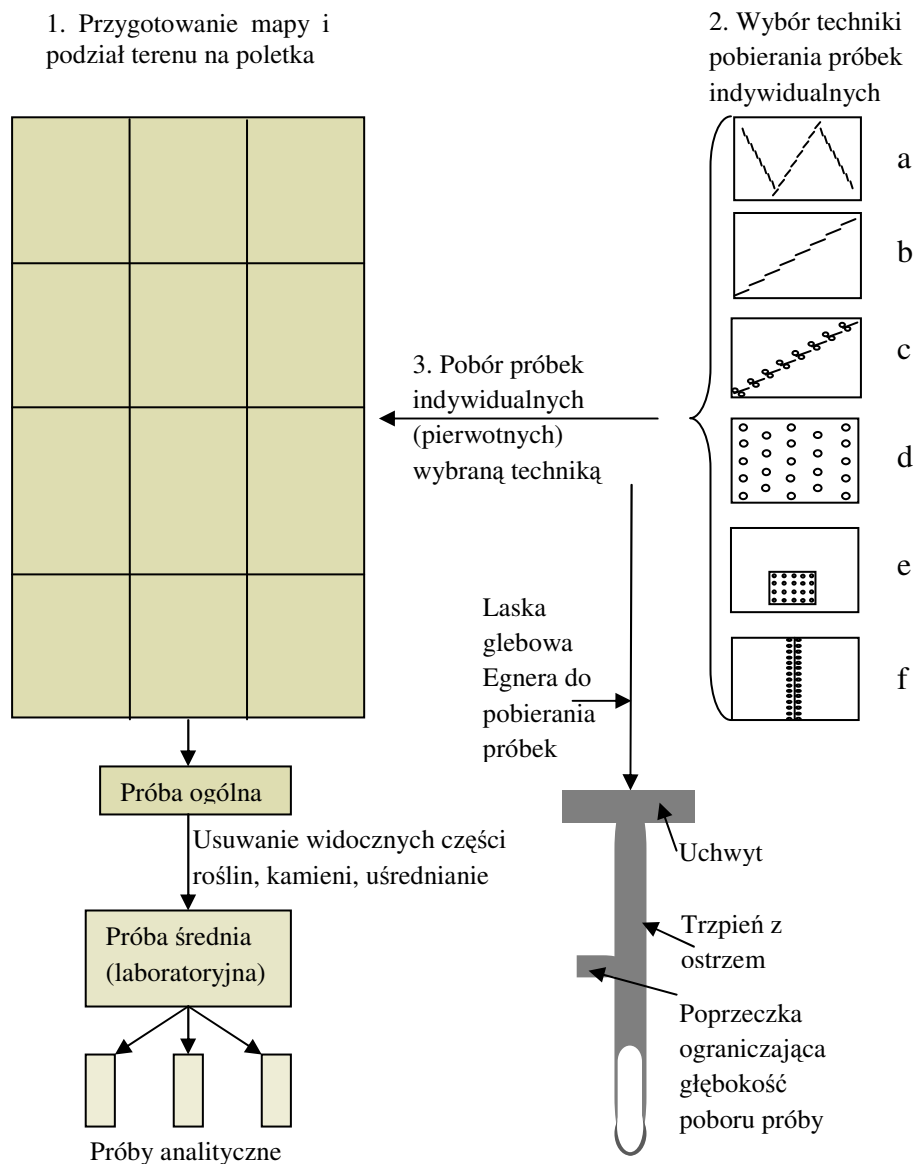
- Teren pobierania próbek należy wybrać na podstawie **mapy geodezyjnej** i podzielić na pola użytku rolnego o zbliżonych warunkach przyrodniczych i agrotechnicznych.
- Na polu pobiera się, za pomocą **laski glebowej Egnera, próbki indywidualne (pierwotne)** wg wybranego systemu, które tworzą **próbkę ogólną danego pola**. Laskę Egnera wciska się w glebę, następnie wykonuje pełny obrót i wyciąga próbkę, którą umieszcza się w tekturowym kartoniku.
- W tym samym kartoniku umieszcza się wszystkie próbki indywidualne tworzące próbę ogólną.
- Próbę ogólną, po przewiezieniu do laboratorium, uśrednia się. Przy wyrównanych warunkach przyrodniczych i agrotechnicznych, próba średnia powinna odpowiadać powierzchni 0,2-4 ha.

Pobieranie **osadów dennych** odbywa się z łódki i służą do tego **czerpaki i próbники** o różnej konstrukcji. Osad pobrany przez czerpaki ulega zaburzeniu. Do pobierania osadu o nienaruszonej strukturze, należy użyć odpowiedniego próbника, np. **rdzeniowego**. Są też próbники do pobierania osadów z różnych głębokości, np. **próbники tłokowe**.

Przy pobieraniu próbek gruntu czy osadów, tak jak przy pobieraniu innych prób, należy postępować zgodnie z systemem Kontroli Pochodzenia Produktu (COC).

2. Utrwalanie i magazynowanie próbek

Zanim próbka trafi do laboratorium i będzie poddana procedurze analitycznej musi być odpowiednio utrwalona, by zapobiec zmianom analitów. **Sposoby utrwalania zależą od właściwości fizykochemicznych substancji badanych oraz właściwości matrycy.** W tabelach 4, 5, 6, 7 i 8 przedstawiono wybrane sposoby utrwalania i magazynowania próbek gleby i wody.



Rysunek 12. Schemat pobierania próbek gleby ornej; a) – technika zakosami wzdłuż pola, b) – technika po przekątnej pola, c) – technika po przekątnej, z poborem po obu stronach przekątnej, d) technika normalna, e) – technika losowa, f) – technika linii poprzecznej

Tabela 4. Sposoby utrwalania i przechowywania próbek gleby w celu oznaczenia niektórych związków nieorganicznych

Anality	Rodzaj pojemnika	Sposób utrwalania	Czas i warunki przechowywania
Ołów organiczny	Sz., M., S.	2 do 6°C	14 dni
Metale z wyjątkiem rtęci	Sz., M., S.	2 do 6°C	6 miesięcy
Rtęć	Sz., M., S.	2 do 6°C	28 dni
Chrom(VI)	Sz., M., S.	2 do 6°C	1 miesiąc przed ekstrakcją, 4 dni przed analizą
Całkowity węgiel organiczny	Sz., M., S.	2 do 6°C	28 dni
Halogenki	Sz., M., S.	2 do 6°C	28 dni

Stosowane skróty: Sz. – pojemnik szklany, M. – pojemnik mosiężny, S. – pojemnik stalowy.

Tabela 5. Sposoby utrwalania i przechowywania próbek gleby w celu oznaczenia wybranych związków organicznych

Anality	Rodzaj pojemnika	Sposób utrwalania	Czas i warunki przechowywania
Gazolina i inne lotne składniki ropy naftowej	Sz., SUPG	2 do 6°C, NaHSO ₄ pH<2, metanol	48 h nieutrwalone 7 dni po utrwaleniu NaHSO ₄ 14 dni z metanolem
Olej mineralny, semilotne i nielotne składniki ropy naftowej	Sz., M., S.	2 do 6°C	14 dni przed ekstrakcją 40 dni przed analizą
Lotne związki organiczne	G, SUPG	2 do 6°C, NaHSO ₄ pH<2, metanol	48 h nieutrwalone 7 dni po utrwaleniu NaHSO ₄ 14 dni z metanolem
Semilotne związki organiczne	Sz., M., S.	2 do 6°C	14 dni przed ekstrakcją 40 dni przed analizą
Chlorowc pochodne i aromatyczne składniki lotne	Sz., SUPG	2 do 6°C, NaHSO ₄ pH<2, metanol	48 h nieutrwalone 7 dni po utrwaleniu NaHSO ₄ 14 dni z metanolem
Chloroorganiczne pestycydy polichlorowane bifenyle, fosforoorganiczne pestycydy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, dioksyny	Sz., M., S.	2 do 6°C	14 dni przed ekstrakcją 40 dni przed analizą

Stosowane skróty: SUPG – „szczelne urządzenie do pobierania próbek gleby”, Sz. – pojemnik szklany, M. – pojemnik mosiężny, S. – pojemnik stalowy.

Tabela 6. Sposoby utrwalania i przechowywania próbek wody w celu oznaczenia jej parametrów podstawowych

Anality	Rodzaj pojemnika	Sposób utrwalania	Czas i warunki przechowywania
Kolor, zapach, smak	Sz.	2 do 6°C, w ciemności	Maksymalnie 24 h
Tlen rozpuszczony	Sz.	Nieutrwalana	Nie przechowywać <i>Analiza in situ</i>
Metan, etan, etylen	Sz., szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C, bez fazy nadpowierzchniowej	Nie przechowywać <i>Analiza in situ</i>
pH	Sz., PE	Nieutrwalana	<i>Analiza in situ</i> , maksymalnie 2 h
Przewodnictwo elektryczne	Sz., PE	2 do 6°C	48 h
Potencjał oksydacyjno-redukcyjny	Sz.	Nieutrwalana	Nie przechowywać, <i>Analiza in situ</i>
Twardość	Sz., PE	HNO ₃ , pH<2	1 miesiąc
Zmętnienie	Sz., PE	2 do 6°C, w ciemności	Nie przechowywać, <i>Analiza in situ</i>
Zasadowość Kwasowość	Sz., PE	2 do 6°C, w ciemności	Maksymalnie 24 h

Stosowane skróty: Sz. – pojemnik szklany, PE – pojemnik z polietylenu o wysokiej gęstości.

Tabela 7. Sposoby utrwalania i przechowywania próbek wody w celu oznaczenia niektórych związków organicznych

Anality	Rodzaj pojemnika	Sposób utrwalania	Czas i warunki przechowywania
Gazolina i inne lotne składniki ropy naftowej	Sz., szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C, bez fazy nadpowierzchniowej, HCl, pH<2	14 dni
Olej mineralny, semilotne i nielotne składniki ropy naftowej	Sz., ciemne, szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C	7 dni przed ekstrakcją 40 dni przed analizą
Lotne związki organiczne	Sz., szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C, HCl, pH<2	14 dni
Semilotne związki organiczne	Sz., ciemne, szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C	7 dni przed ekstrakcją 40 dni przed analizą
Chlorowcopochone i aromatyczne składniki lotne	Sz., szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C, HCl, pH<2	14 dni
Chloroorganiczne pestycydy polichlorowane bifenyle, fosforoorganiczne pestycydy, chlorowane herbicydy, WWA, dioksyne, nitroaromatyczne związki, nitroaminy	Sz., ciemne, szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C	7 dni przed ekstrakcją 40 dni przed analizą

Stosowane skróty: Sz. – pojemnik szklany.

Tabela. 8. Sposoby utrwalania i przechowywania próbek wody w celu oznaczenia niektórych związków nieorganicznych

Anality	Rodzaj pojemnika	Sposób utrwalania	Czas i warunki przechowywania
Ołów organiczny	Sz., szczelne z uszczelką teflonową	2 do 6°C, bez fazy nadpowierzchniowej	14 dni
Metale z wyjątkiem rtęci	Sz., PE	Temperatura pokojowa, HNO ₃ , pH<2	6 miesięcy
Rtęć całkowita	Sz., PE	2 do 6°C, HNO ₃ , pH<2	28 dni
Chrom(VI)	Sz., PE	2 do 6°C	24 h
Całkowity węgiel organiczny	Sz., PE	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ lub HCl, pH<2	28 dni
Halogenki	Sz.	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ lub HCl, pH<2	28 dni
Aniony Azotany(III) Azotany(V)	Sz., PE	2 do 6°C	48 h
Azotany(III) + Azotany(V)	Sz., PE	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ , pH<2	28 dni
Azot	Sz., PE	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ , pH<2	28 dni
Amoniak jako azot	Sz., PE	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ , pH<2	28 dni
Siarczany(IV)	Sz., PE	2 do 6°C, octan cynku + NaOH, pH>9	7 dni
Siarczany(VI)	Sz., PE	2 do 6°C	28 dni
Chlorki	Sz., PE	2 do 6°C	28 dni
Fenole	Sz.	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ , pH<2	28 dni
ChZT	Sz., PE	2 do 6°C, H ₂ SO ₄ , pH<2	28 dni
BZT	Sz., PE	2 do 6°C	48 h

Stosowane skróty: Sz. – pojemnik szklany, PE – pojemnik z polietylenu o wysokiej gęstości.

3. Wprowadzenie do analityki zanieczyszczeń

3.1. Proces analityczny

Analityka jest nauką, która zajmuje się opracowywaniem metod i praktycznym ich stosowaniem w celu poznania, ze znaną precyzją i dokładnością, składu chemicznego poszczególnych elementów materii – organicznej i nieorganicznej. Rozwój analityki postępuje w wielu kierunkach, z czego dwa są dominującymi:

- **rozszerzanie zakresu oznaczanych związków chemicznych,**
- **wykrywanie i oznaczanie coraz mniejszych ilości substancji w różnych matrycach, w tym bardzo skomplikowanych.**

Te główne kierunki realizowane są poprzez:

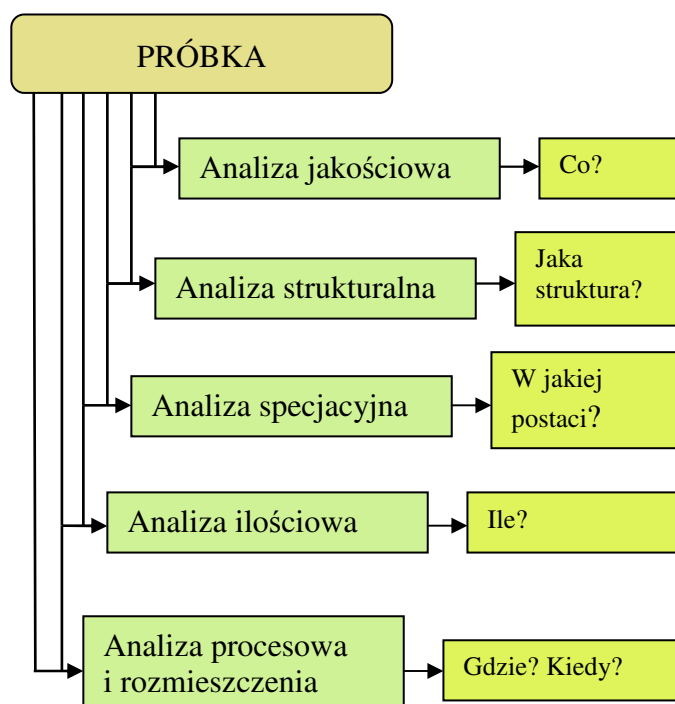
- **opracowywanie i stosowanie nowych metod analitycznych,**
- **konstrukcję nowych przyrządów pomiarowych i urządzeń analitycznych,**
- **opracowywanie i stosowanie nowych metod izolacji i wzbogacania analitów ze złożonych matryc,**
- **opracowywanie i stosowanie nowych metod statystycznej obróbki wyników.**

Analityka jest nauką interdyscyplinarną, a jej rozwój jest ściśle związany z rozwojem prawie wszystkich dziedzin, w tym chemii, fizyki, elektroniki, informatyki, biologii, biotechnologii, inżynierii materiałowej, technologii materiałów o wysokiej czystości, katalizy i innych. Analityka dostarcza informacje niezbędne do rozwiązywania problemów związanych z ochroną środowiska naturalnego (rysunek 13). Informacje są uzyskiwane poprzez fizyczne lub chemiczne działanie na próbkę. Są to informacje o:

- **składzie** próbki, czyli jakie substancje i w jakiej ilości występują w próbce,
- **strukturze** poszczególnych składników próbki, czyli struktura ciała stałego, cieczy czy budowa cząsteczki,
- **procesie** zachodzącym w materialnym układzie badanym, czyli o zmianie zawartości poszczególnych składników próbki w czasie,
- **rozmieszczeniu** przestrzennym w skali makro poszczególnych składników próbki.

Podstępowanie analityczne zaczyna się od określenia problemu i związanego z nim obiektu badań.

Precyzyjne określenie problemu pozwala na poprawne wykonanie wszystkich faz postępowania analitycznego, począwszy od planowania (dotyczącego zaangażowania osób, środków finansowych, procedury analitycznej i metody pomiaru) poprzez wykonanie zaplanowanego procesu analitycznego i kończąc na ocenie wyników badań.



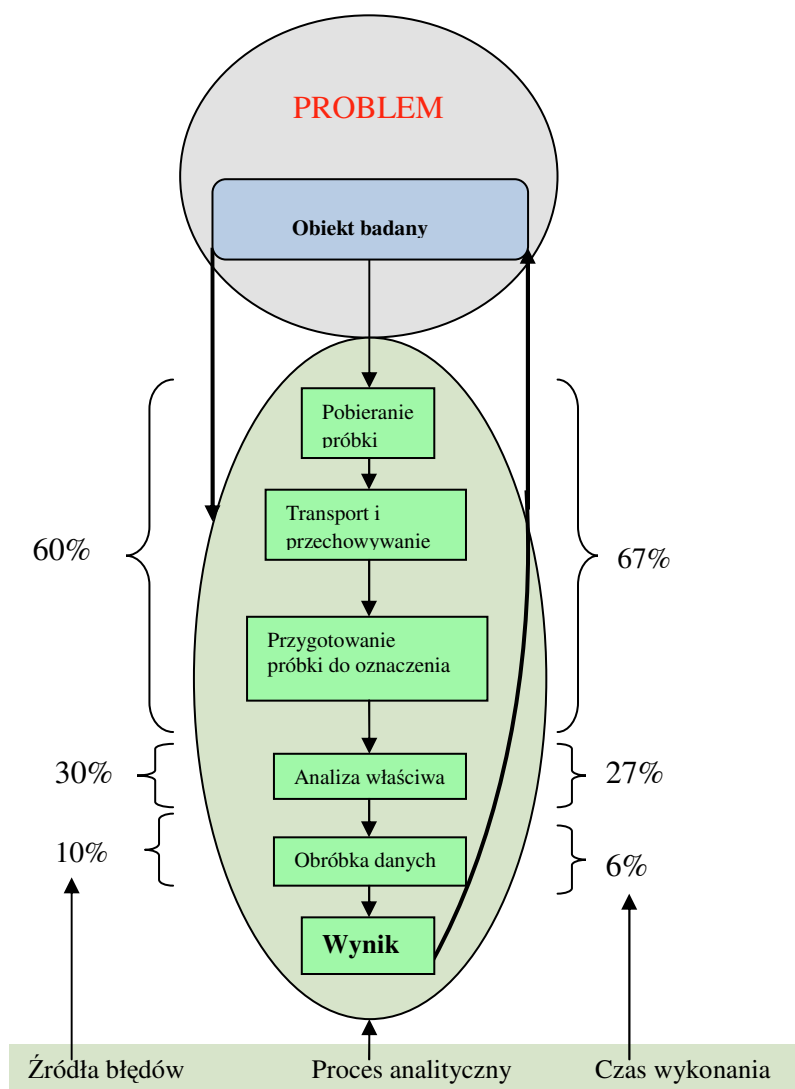
Rysunek 13. Informacje uzyskiwane w procesie analitycznym

Przeprowadzenie procesu analitycznego dostarcza informacji, które są podstawą rozwiązywania problemów ochrony środowiska naturalnego. Każdy proces analityczny składa się z kilku etapów, których wykonanie ma istotny wpływ na wiarygodność informacji analitycznej, czyli wyniku analizy (rysunek 14). **Najwięcej błędów w procesie analitycznym popełnianych jest w trakcie pobierania i przygotowania próbki do analizy właściwej.** Te etapy są również **najbardziej czasochłonne.** **Wykonanie analizy właściwej, czyli oznaczenie analitu** może również stanowić źródło błędu, głównie z powodu błędów w kalibracji przyrządów. Wreszcie sama obróbka uzyskanych wyników może prowadzić do niewłaściwych wniosków, jeśli zostaną popełnione błędy rachunkowe lub nieodpowiednia metoda analizy danych.

Dokładność całego oznaczenia nie jest nigdy lepsza od dokładności pierwszego etapu procesu analitycznego, czyli pobrania próbki. Poza tym, dokładność całego procesu jest dokładnością jego najslabszego ogniwa.

3.2. Metody procesu analitycznego

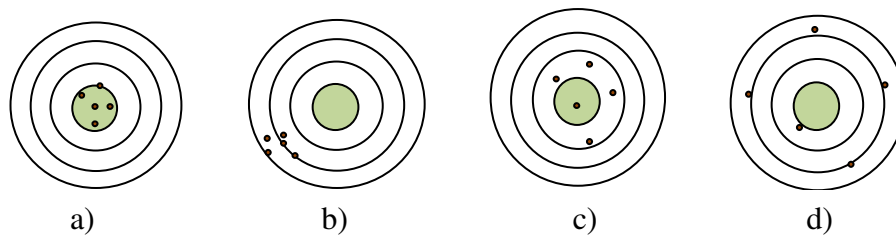
W analityce zanieczyszczeń środowiska istnieje konieczność dysponowania metodami oznaczania śladowych ilości substancji. W zależności od zawartości, oznaczane składniki próbki określa się jako: **główne** (>1,0%), **uboczne** (<1,0 – 0,01%) oraz **ślady** (<0,01%). W śladach wyróżnia się **mikroślady** (10^{-8} - 10^{-11} %), **nanoślady** (10^{-11} - 10^{-14} %) oraz **piko ślady** (10^{-14} - 10^{-17} %). Dlatego, wybierając metodę analityczną, trzeba brać pod uwagę następujące cechy: **dokładność, precyzję, czułość, oznaczalność i wykrywalność oraz specyficzność.**



Rysunek 14. Schemat procesu analitycznego

Dokładność i **precyzję** metody analitycznej obrazuje rysunku 15. Metodą dokładną jest ta, która daje wyniki bliskie wartości rzeczywistej (a i c), metodą precyzyjną otrzymuje się wyniki mało różniące się od siebie wartością przy wielokrotnych powtórzeniach pomiarów (a i b).

W przedstawionych na rysunku 15 schemacie, metoda a) jest dokładna i precyzyjna, metoda b) jest precyzyjna, ale niedokładna, metoda c) jest dokładna, ale nieprecyzyjna i metoda d) jest niedokładna i nieprecyzyjna.



Rysunek 15. Schemat obrazujący dokładność i precyzję metody analitycznej

Czułość metody analitycznej jest to stosunek przyrostu wartości sygnału analitycznego do odpowiadającego mu przyrostu stężenia lub ilości badanej substancji. Im mniejsze różnice między stężeniami badanych substancji można wykryć, tym metoda jest czulsza.

Oznaczalność jest to najmniejsze stężenie lub ilość oznaczanej substancji w próbce, które można oznaczyć daną metodą. **Wykrywalność** jest to najmniejsze stężenie lub najmniejsza ilość badanego związku w próbce, którą można wykryć daną metodą z określonym prawdopodobieństwem. **Specyficzność** lub **selektywność** metody jest to możliwość oznaczania daną metodą niewielkiej liczby lub pojedynczej substancji, niezależnie od obecności w próbce innych substancji.

Pozostałymi **kryteriami wyboru metody analitycznej** są:

- wielkość próbki,
- stan skupienia próbki,
- możliwość rozkładu lub zniszczenia próbki,
- zakres oznaczalności metody,
- liczba oznaczeń,
- czas wykonywania analizy,
- koszt analizy.

Metody stosowane w analizie chemicznej mogą być bezpośrednie lub złożone. W metodach **bezpośrednich** składniki próbki są oznaczane bez etapów przygotowywania próbki i jej niszczenia. Taką metodą jest np. oznaczanie jonów za pomocą elektrod jonoselektywnych. Metody **złożone** są to wieloetapowe procedury, wymagające różnych metod i technik przygotowania próbki do oznaczenia właściwego, często połączonych z jej destrukcją.

Metody analizy, które nie wymagają stosowania wzorców są **metodami bezwzględnyymi** lub **absolutnymi**. Takich metod jest niewiele, podstawą ich są najczęściej reakcje chemiczne przebiegające ze 100% wydajnością, wg znanej stechiometrii. Przykładami metod bezwzględnych są metody grawimetryczne, gdzie pomiar polega na ważeniu: wydzielonego w reakcji strącania osadu – grawimetria, masy substancji wydzielonej na elektrodzie – **elektrograwimetria**, straty masy w czasie ogrzewania – **termograwimetria**. Metodą absolutną jest również **miareczkowanie**, w którym pomiar polega na zmierzeniu objętości titranta.

Metody, w których mierzy się parametr fizyczny, będący funkcją stężenia lub ilości substancji oznaczanej są **metodami porównawczymi** lub **względnyymi**.

Do oznaczenia ilości metodą względną konieczne jest porównywanie (kalibrowanie) otrzymanych wyników z wynikami uzyskanymi dla dokładnie znanych ilości (stężenia) znanej substancji wzorcowej (wzorca).

3.3. Oznaczenia ilościowe metodami względnymi

Większość metod instrumentalnych wymaga porównania z wzorcami, które może być wykonane w różny sposób, ale najczęściej wykorzystuje się trzy podstawowe metody kalibracji, oparte na liniowej zależności wielkości mierzonego parametru od ilości (masy lub stężenia) badanego składnika próbki:

- **metodę krzywej kalibracyjnej**, zwanej metodą wzorców zewnętrznych,

- metodę dodawania wzorca, którym jest znana ilość substancji oznaczanej,
- metodę wzorca wewnętrznego, którym jest znana ilość substancji nie będącej analitem i nie występującej w próbce.

3.3.1. Metoda krzywej kalibracyjnej

Metodę krzywej kalibracyjnej stosuje się prawie we wszystkich technikach analitycznych: elektrochemicznych, spektroskopowych i chromatograficznych. **Wielkość (wartość) mierzonego parametru, który jest określony stosowaną techniką jest funkcją ilości (stężenia lub masy) oznaczanej substancji ($Y = f(c)$), gdzie Y – wartość parametru mierzonego, c – masa lub stężenie substancji w próbce, od której zależy wartość mierzonego parametru).**

Zależność $Y = f(c)$ jest funkcją liniową, którą można opisać równaniem prostej:

$$Y = ac + b \quad (1)$$

gdzie:

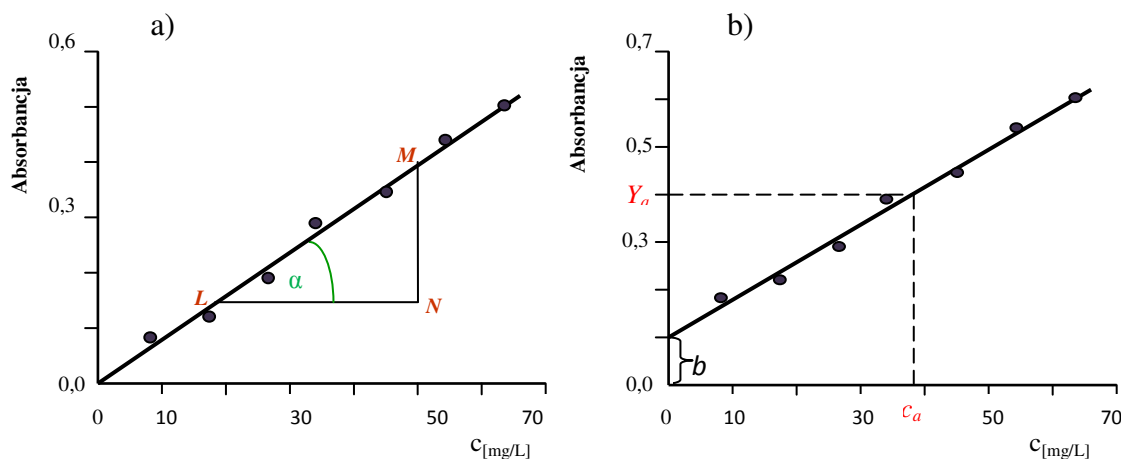
a – współczynnik kierunkowy prostej (współczynnik proporcjonalności),

b – wartość stała, często bywa wartością eksperymentalną ślepej próby.

Jeśli prosta przechodzi przez początek układu współrzędnych ($b = 0$), równanie przyjmuje postać:

$$Y = ac \quad (2)$$

Oba przypadki przedstawiono graficznie na rysunku 16; rysunku 16a dla $b=0$ i rysunku 16b dla $b \neq 0$ (prosta nie przechodzi przez początek układu współrzędnych). Parametr b może przyjmować wartości dodatnie, ujemne lub zero.



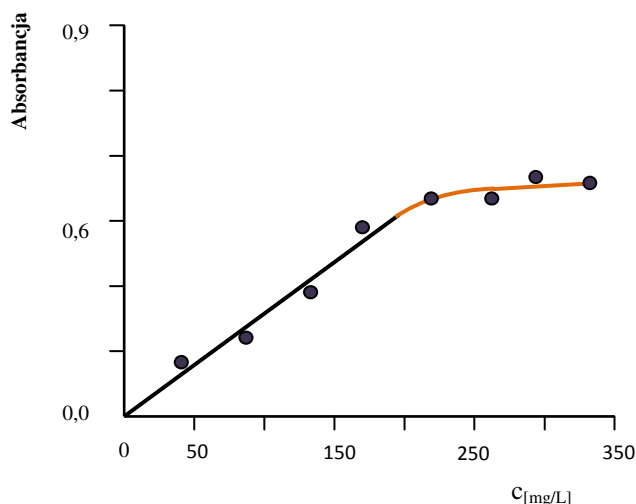
Rysunek 16. Przykłady krzywych kalibracyjnych zależności absorpcji roztworu substancji oznaczanej od jej stężenia, wyrażonego w mg/L

Czułość metody określa wartość współczynnika proporcjonalności $a = \operatorname{tg} \alpha = \frac{MN}{LN}$.

Im większa wartość współczynnika proporcjonalności (a), tym większy przyrost wartości sygnału analitycznego (MN), spowodowany przyrostem stężenia lub ilości badanej substancji (LN). Oznacza to wyższą czułość metody, ponieważ można wykryć mniejsze różnice między stężeniami badanej substancji. **Metody o małym kącie nachylenia krzywych kalibracyjnych nie są przydatne do celów analitycznych.**

Aby wykonać krzywą kalibracyjną, przygotowuje się szereg roztworów substancji analizowanych (5–8) o coraz większych stężeniach, tak dobranych, aby różniły się o 20-30% i obejmowały swym zakresem możliwe zmiany stężeń roztworów oznaczanych, dbając również, aby wzorce i analit przygotowywać w takim samym środowisku. Podobnie przygotowuje się tzw. **ślepią próbę** – roztwór, zawierający wszystkie składniki z wyjątkiem oznaczanego. Dla każdego roztworu mierzy się wartość Y . Zależność wartości mierzonego parametru od stężenia wzorców, $Y = f(c)$ wykreśla się na papierze lub wylicza równanie prostej metodą najmniejszych kwadratów. Następnie wykonuje się pomiar dla próbki badanej, po czym nanosi zmierzone dla analitu Y_a na krzywą kalibracyjną i odczytuje odpowiadające mu stężenie c_a (rysunek 16b) lub oblicza z równania prostej.

Aby prawidłowo oznaczyć stężenia analitu metodą krzywej kalibracyjnej należy pamiętać, że ma ona określony zakres prostoliniowości, w którym uzyskuje się wiarygodne wyniki. Na przedstawionej na rysunku 17 krzywej kalibracyjnej, do celów analitycznych nadaje się zakres stężeń od 0 do ok. 200 mg/L (czarny odcinek krzywej).



Rysunek 17. Krzywa kalibracyjna o ograniczonym zakresie stosowania

Krzywą kalibracyjną należy wykonywać w dniu pomiarów, zmiana warunków pomiarów (np. temperatury) czy użycie innej partii odczynników może powodować przesunięcie krzywej kalibracyjnej na osi Y lub zmianę nachylenia prostej $Y = f(c)$.

Na wartość wielkości mierzonej może mieć duży wpływ **matryca**, czyli to wszystko, co wprowadzamy do układu pomiarowego poza substancją oznaczaną. Udział matrycy należy uwzględnić przy sporządzaniu roztworów wzorcowych, **dbając by roztwory wzorcowe miały skład i właściwości fizyko-chemiczne jak najbardziej zbliżone do właściwości roztworu analitu**. Zmniejszenie wpływu matrycy na wartość wielkości mierzonej można niekiedy uzyskać przez wprowadzanie do próbki substancji maskujących. Ograniczenie wpływu matrycy może być trudne lub niemożliwe, jak często bywa w przypadku próbek środowiskowych, należy wtedy zastosować metodę dodawania wzorca lub zmienić sposób przygotowania próbki do pomiarów.

3.3.2. Metoda wzorca wewnętrznego

Metodę wzorca wewnętrznego stosuje się głównie w technikach chromatograficznych, dlatego do omówienia metody posłużono się przykładem chromatograficznym. W metodzie wzorca wewnętrznego do badanej próbki dodaje się określoną ilość wzorca (substancji standardowej, ang. *internal standard*, IS), dobrze oddzielającego się w danych warunkach analizy od wszystkich badanych i niebadanych składników próbki. **Wzorec powinien mieć właściwości fizyko-chemiczne maksymalnie zbliżone do właściwości substancji badanej, nie może być składnikiem analizowanej próbki**, poza tym powinien być nielotny, trwały i dostępny w postaci czystej. **Ilość dodanego wzorca powinna być porównywalna z ilością badanej substancji.**

Sygnał większości detektorów, stosowanych w chromatografii, zależy od rodzaju analizowanych związków i dlatego **stosunek wysokości (lub powierzchni) sygnałów chromatograficznych dwóch związków nie jest równy stosunkowi ich zawartości w mieszaninie.** W chromatografii gazowej odpowiedź detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID) jest wprost proporcjonalna do liczby atomów węgla niezwiązanych z tlenem a nie do masy związku. W chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym UV, wielkość sygnału chromatograficznego zależy od molowego współczynnika absorpcji i od ilości substancji. Równania krzywej kalibracyjnej dla analitu i dla wzorca, który jest inną substancją, nie będą identyczne. Metodę wzorca wewnętrznego można zastosować, jeżeli wartości b w obu równaniach będą równe zeru.

$$h_a = a_a c_a \quad (3)$$

$$h_w = a_w c_w \quad (4)$$

gdzie:

h_a – wysokość sygnału chromatograficznego analitu,
 a_a – współczynnik kierunkowy prostej $h=f(c)$ dla analitu,
 c_a – stężenie analitu w próbce dozowanej do chromatografu,
 h_w – wysokość sygnału chromatograficznego wzorca,
 a_w – współczynnik kierunkowy prostej $h=f(c)$ dla wzorca,
 c_w – stężenie wzorca w próbce dozowanej do chromatografu.

Równania można podzielić stronami:

$$\frac{h_a}{h_w} = \frac{a_a c_a}{a_w c_w} \quad (5)$$

Stosunek a_a/a_w dla danych substancji i warunków analizy chromatograficznej jest wartością stałą i nosi nazwę **współczynnika detekcji lub współczynnika odpowiedzi f** :

$$f = \frac{a_a}{a_w} \quad (6)$$

Otrzymuje się w ten sposób podstawowe równanie stosowane w metodzie wzorca wewnętrznego:

$$\frac{h_a}{h_w} = f \frac{c_a}{c_w} \quad (7)$$

lub

$$\frac{A_a}{A_w} = f \frac{c_a}{c_w} \quad (8)$$

gdzie:

h_a – wysokość sygnału chromatograficznego analitu,
 A_a – powierzchnia sygnału chromatograficznego analitu,
 c_a – stężenie analitu w próbce,
 h_w – wysokość sygnału chromatograficznego wzorca,
 A_w – powierzchnia sygnału chromatograficznego wzorca,
 c_w – stężenie wzorca w próbce,
 f – współczynnik detekcji (współczynnik odpowiedzi).

W obu równaniach stosunek stężeń można zastąpić stosunkiem mas:

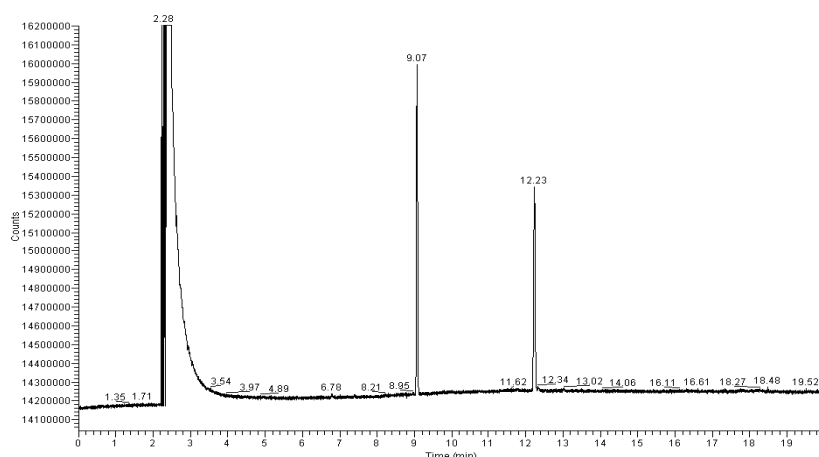
$$\frac{A_a}{A_w} = f \frac{m_a}{m_w} \quad (9)$$

gdzie:

m_a – masa analitu w próbce,
 m_w – masa wzorca w próbce.

Współczynnik odpowiedzi jest wartością charakterystyczną dla określonej pary związków chemicznych, analitu i wzorca wewnętrznego, zależną od warunków przeprowadzanej analizy chromatograficznej.

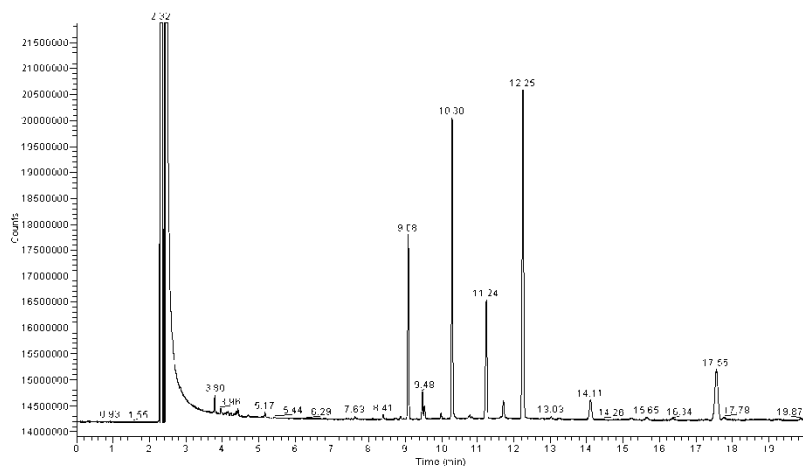
Oznaczenie ilościowe metodą wzorca wewnętrznego składa się z dwóch etapów. W pierwszym etapie przygotowuje się roztwór wzorcowy, zawierający analit oraz wybrany wzorec wewnętrzny w określonym, znanym stężeniu (c_a' oraz c_w'). Wykonuje się analizę roztworu wzorcowego i mierzy wielkość (wysokość lub powierzchnię) sygnału chromatograficznego analitu oraz wielkość sygnału chromatograficznego wzorca wewnętrznego (h_a' i h_w' lub A_a' i A_w') (rysunek 18). Znając te wartości można obliczyć wartość współczynnika detekcji f , korzystając z podstawowego wzoru stosowanego w metodzie wzorca wewnętrznego.



Rysunek 18. Chromatogram GC-FID roztworu wzorcowego (wzorec wewnętrzny - $t_R = 9,07$ min, $c_w' = 1$ mg/mL, $h_w' = 56$ mm oraz analit - $t_R = 12,23$ min; $c_a' = 1$ mg/mL, $h_a' = 35$ mm); na podstawie uzyskanych z chromatogramu danych można obliczyć wartość współczynnika detekcji ($f = 0,625$)

W drugim etapie **dodaje się określoną, znaną ilość wzorca wewnętrznego do badanej próbki, uzyskując jego ilość w badanej masie czy objętości próbki (m_w) lub po przeliczeniu, stężenie wzorca**

wewnętrznego w próbce (c_w). Po przygotowaniu próbki wykonuje się jej analizę chromatograficzną w identycznych warunkach jak w etapie pierwszym. Mierząc na uzyskanym chromatogramie (rysunek 19) odpowiednio wysokość lub powierzchnię sygnału chromatograficznego analitu oraz wzorca wewnętrznego (h_a i h_w lub A_a i A_w), oblicza się zawartość analitu w próbce z tego samego, podstawowego wzoru stosowanego w metodzie wzorca wewnętrznego, stosując wartość wyznaczonego wcześniej współczynnika detekcji f .



Rysunek 19. Chromatogram GC-FID badanej próbki (wzorec wewnętrzny, $t_R = 9,08$ min; $c_w = 0,4$ mg/mL próbki, $h_w = 31$ mm oraz analit - $t_R = 12,25$ min, $h_a = 55$ mm); na podstawie danych z chromatogramu oraz wyznaczonej wartości współczynnika detekcji f można obliczyć stężenie analitu w próbce ($c_a = 0,44$ mg/mL próbki)

Metoda wzorca wewnętrznego jest często stosowana w chromatografii gazowej. Powodem jest przede wszystkim mnogość operacji wykonywanych na próbce, m.in. ekstrakcja i przeprowadzanie jej w pochodne, odpowiednie do analizowania metodą GC. W czasie tych operacji nawet utrata części próbki z dodanym wzorcem wewnętrznym nie zmienia w niej stosunku ilościowego analitu do wzorca. Inne przyczyny to: problemy z określeniem małych objętości rozpuszczalnika, w którym rozpuszcza się badaną próbkę, niemożność uzyskania powtarzalnego dozowania przy zastosowaniu dozownika z dzieleniem oraz eliminacja pomiarów do wykonania krzywej kalibracyjnej.

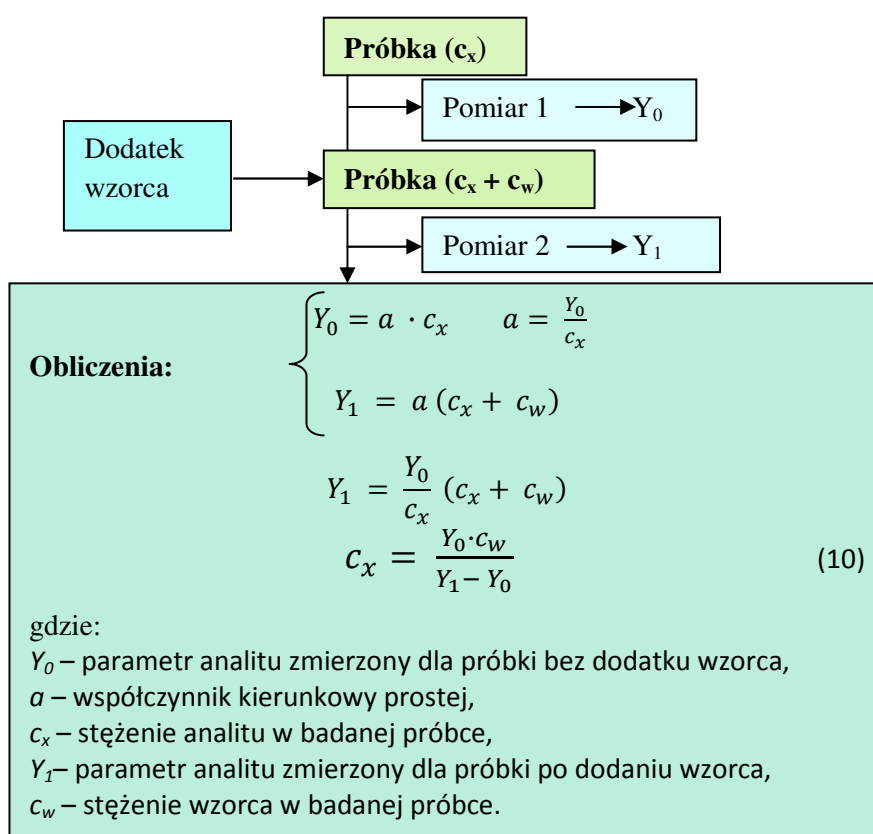
3.3.3. Metoda dodatku wzorca

Metodę dodatku wzorca stosujemy, jeżeli równanie krzywej kalibracyjnej ma przebieg prostoliniowy, nachylenie prostej jest stałe zaś wartość b równa zero. **Wzorcem jest znana ilość analitu (substancji oznaczanej), którą dodaje się do próbki. Dodatek analitu do próbki powoduje wzrost wartości parametru mierzonego, proporcjonalny do ilości dodanej substancji.** Do próbki dodaje się taką ilość wzorca, by wartość mierzonego parametru wzrosła ok. dwukrotnie.

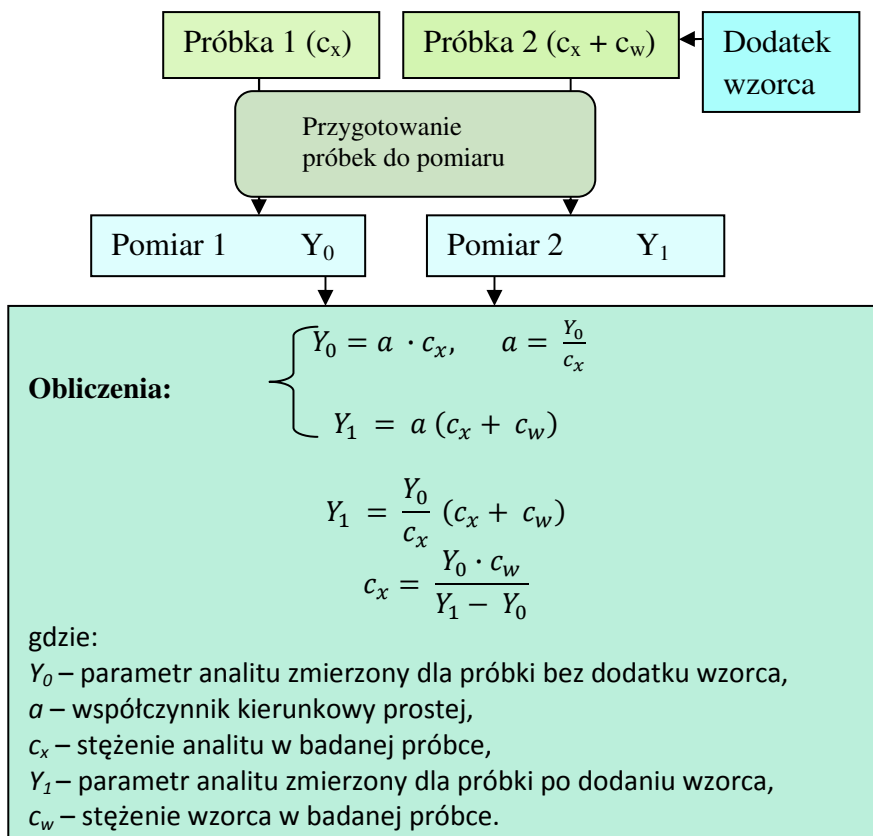
Procedura oznaczeń w metodzie dodatku wzorca zależy od rodzaju pomiarów i może być wykonywana z użyciem jednej próbki analitycznej albo dwu, trzech lub więcej równoległych próbek analitycznych. W przedstawionym schemacie na rysunku 20, oznaczenie polega na wykonaniu dwóch pomiarów dla jednej próbki: pierwszy przed dodaniem wzorca, drugi - po dodaniu wzorca. Warunkiem uzyskania poprawnych wyników jest niezmiennosc próbki w czasie

pomiarów oraz korekta objętości próbki, a tym samym stężenia, które zmienia się z powodu dodania wzorca przed drugim pomiarem lub/i z powodu pobrania części próbki do pierwszego pomiaru. **Korekty objętości dokonuje się tylko wtedy, gdy zmiany są istotne.** W przypadku posługiwania się **mikrolitrowymi** ilościami roztworów próbki, wykorzystywanych do pomiaru oraz przy stosowaniu **mikrostrzykawek** przy dozowaniu wzorca, zmiany objętości są minimalne i nie wpływają istotnie na wynik oznaczenia.

Bardzo często próbka przed oznaczeniem właściwym musi przejść przez mniej lub bardziej skomplikowany proces przygotowania - w takim przypadku pobiera się dwie identyczne próbki 1 i 2 i postępuje wg schematu przedstawionego na rysunku 21. Do próbki 2 dodaje się **znaną ilość wzorca, który jest badaną substancją** (analitem). Próbkę przygotowuje się do oznaczenia końcowego w identyczny sposób, następnie wykonuje oznaczenie, używając do pomiaru jednakowych ilości obu próbek.

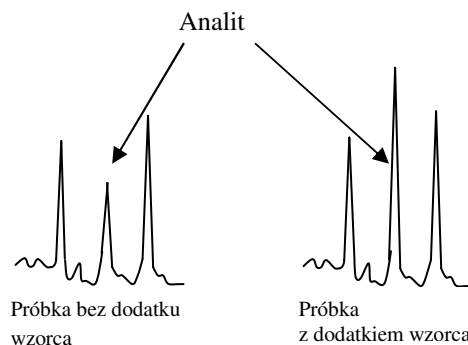


Rysunek 20. Procedura oznaczania ilościowego analitu metodą dodatku wzorca



Rysunek 21. Procedura oznaczania ilościowego metodą dodatku wzorca (pomiar próbek równoległych)

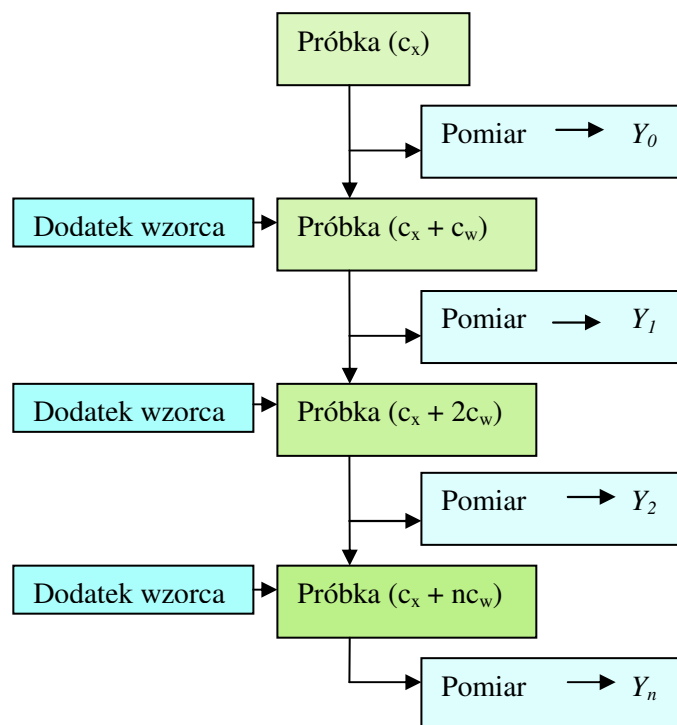
Na rysunku 22 przedstawiono fragmenty chromatogramów próbek 1 i 2, na których widać jak zmienia się wielkość sygnału chromatograficznego po dodaniu wzorca, **czyli po kontrolowanym zwiększeniu ilości analitu w próbce.**



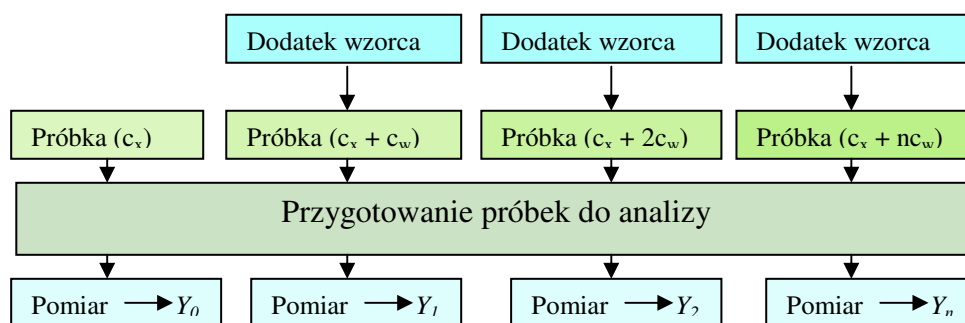
Rysunek 22. Fragmenty chromatogramów próbki 1 (z lewej) oraz próbki 2 (z prawej)

W przypadku próbek, zawierających małe ilości analitu, niewiele większe od ich granicy oznaczalności, stosuje się wariant wielokrotnego dodatku wzorca. Oznaczenie można wykonać stosując jedną próbkę (rysunek 23) lub kilka równoległych próbek (rysunek 24).

W pierwszym przypadku dokonuje się pomiaru próbki bez dodatku, następnie dodaje się wielokrotnie wzorzec, wykonując pomiar po każdym dodaniu. W drugim przypadku przygotowuje się kilka równoległych próbek, do których dodaje się różne ilości wzorca, następnie wykonuje pomiary dla każdej próbki.



Rysunek 23. Schemat procedury oznaczania ilościowego metodą wielokrotnego dodatku wzorca



Rysunek 24. Schemat procedury oznaczania ilościowego metodą wielokrotnego dodatku wzorca (pomiar próbek równoległych)

W obu wariantach zawartość analitu w próbce można obliczyć lub wyznaczyć graficznie. W najprostszym przypadku – dwukrotnego dodatku wzorca, pierwszy pomiar po dodaniu wzorca, można zapisać równaniem:

$$Y_1 = a(c_x + c_w)$$

Drugi pomiar, po dodaniu drugiej porcji wzorca, można zapisać równaniem:

$$Y_2 = a(c_x + c_{w1})$$

Rozwiązując układ równań, otrzymuje się wzór na zawartość analitu w próbce:

$$c_x = \frac{Y_1 c_{w1} - Y_2 c_w}{Y_2 - Y_1} \quad (11)$$

gdzie:

Y_1 – parametr analitu zmierzony dla próbki po dodaniu pierwszej porcji wzorca,
 a – współczynnik kierunkowy prostej,

c_x – stężenie analitu w badanej próbce,
 Y_2 – parametr analitu zmierzony dla próbki po dodaniu dwukrotnym wzorca,
 c_w – stężenie wzorca w badanej próbce po dodaniu pierwszej porcji wzorca,
 c_{w1} – stężenie wzorca w badanej próbce po dodaniu dwukrotnym wzorca.

W wariancie kilkukrotnego dodatku wzorca, po wykonaniu pomiarów dla próbki pierwotnej oraz po każdym dodaniu wzorca, zależność wielkości mierzonego parametru (Y) od stężenia wzorca w próbce (c_x) można zapisać w postaci równania:

$$c_x = \frac{Y_0 \cdot c_{wn}}{\Delta Y} \quad (12)$$

lub

$$\Delta Y = \frac{Y_0 \cdot c_{wn}}{c_x} \quad (13)$$

gdzie:

$$\Delta Y = Y_n - Y_0,$$

Y_n - parametr analitu zmierzony dla próbki po n-tym dodaniu wzorca,

Y_0 – parametr analitu zmierzony dla próbki pierwotnej,

c_x - stężenie analitu w próbce pierwotnej,

c_{wn} - stężenie wzorca w próbce po n-tym dodaniu wzorca.

W zależności $\Delta Y = f(c_{wn})$ wyrażenie $\frac{Y_0}{c_x}$ jest współczynnikiem proporcjonalności, wyrażającym nachylenie prostej, zatem:

$$\frac{Y_0}{c_x} = \operatorname{tg} \alpha \quad (14)$$

czyli:

$$c_x = \frac{Y_0}{\operatorname{tg} \alpha} \quad (15)$$

Obliczając równanie prostej $\Delta Y = f(c_{wn})$ i znając wartość parametru Y_0 dla próbki bez dodatku wzorca można obliczyć stężenie analitu w próbce pierwotnej.

Wartość tę można też wyznaczyć graficznie, wykreślając zależność $Y_n = f(c_{wn})$ i ekstrapolując prostoliniową zależność do punktu $Y_n = 0$ (przecięcie prostej z osią odciętych) i odczytaniu w punkcie przecięcia stężenia analitu w próbce pierwotnej.

3.4. Przedstawianie wyników oznaczeń

Każdy wynik uzyskany w procesie analitycznym jest obarczony błędem, który może być przypadkowy, systematyczny lub grubo. Aby informacja uzyskana w procesie analitycznym była wiarygodna, błąd należy oszacować i podać łącznie z wynikiem oznaczenia. Wynik oznaczenia podaje się najczęściej, jako średnią arytmetyczną (\bar{x}) wielkości uzyskanych z wielokrotnych pomiarów:

$$\bar{x} \pm \varepsilon$$

gdzie ε jest wiarygodnością wyniku, wyrażoną odchyleniem standardowym średniej arytmetycznej, przedziałem ufności lub inną miarą niepewności wyniku.

Średnia arytmetyczna jest wyliczana, po odrzuceniu błędów grubych, z n wyników wg wzoru:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (16)$$

gdzie:

\bar{x} - średnia arytmetyczna,
 x_i - pojedynczy wynik,
 n - ilość wyników.

Odchylenie standardowe określa dokładność i precyzję, im mniejsze, tym wyniki są bliższe wartości rzeczywistej i bardziej precyzyjne. **Odchylenie standardowe wartości średniej $s_{\bar{x}}$** (ang. *standard error, SE*) oblicza się z wyników jednej próbki, uzyskanych ze znanej ilości równoległych oznaczeń, wg następującego wzoru:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (17)$$

gdzie:

s – odchylenie standardowe pojedynczego wyniku,
 n – liczba powtarzanych oznaczeń.

Odchylenie standardowe pojedynczego wyniku s (ang. *standard deviation, SD*), jest miarą rozrzutu wartości poszczególnych pomiarów wokół średniej. Oblicza się je ze wzoru:

$$s = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \quad (18)$$

Zatem odchylenie standardowe wartości średniej $s_{\bar{x}}$ oblicza się ze wzoru:

$$s_{\bar{x}} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - \bar{x})^2}{n(n - 1)} \quad (19)$$

Dla określenia wielkości błędu standardowego w odniesieniu do wartości średniej stosuje się **względne odchylenie standardowe średniej arytmetycznej RSD** (ang. *relative standard error, RSE*), często wyrażane w procentach:

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} 100\% \quad (20)$$

Średnia arytmetyczna zbliża wynik oznaczenia do wartości rzeczywistej, ale nią nie jest, dlatego wynik podaje się jako **przedział ufności**, czyli zakres wartości, w którym wartość rzeczywista znajdzie się z dużym (określonym) prawdopodobieństwem. Przedział ufności oblicza się wg wzoru:

$$L = \bar{x} \pm t s_{\bar{x}} \quad (21)$$

gdzie:

t – współczynnik t -Studenta, odczytywany z tablic statystycznych dla określonej liczby wyników i prawdopodobieństwa.

W analizie śladowych zanieczyszczeń środowiska, oprócz jednostek układu SI bardzo często stosowane są jednostki, które są bliższe oznaczanym wartościom. W tabeli 9 podano wykaz jednostek najczęściej stosowanych w analizie chemicznej.

Tabela 9. Jednostki stosowane w analityce chemicznej

Wielkość fizyczna	Jednostka SI	Inne jednostki
Masa	kg	$1 \text{ g} = 10^{-3} \text{ kg}$ $1 \text{ mg} = 10^{-3} \text{ g} = 10^{-6} \text{ kg}$ $1 \text{ } \mu\text{g} = 10^{-3} \text{ mg} = 10^{-6} \text{ g} = 10^{-9} \text{ kg}$ $1 \text{ ng} = 10^{-3} \text{ } \mu\text{g} = 10^{-6} \text{ mg} = 10^{-9} \text{ g} = 10^{-12} \text{ kg}$
Długość	m	$1 \text{ cm} = 10^{-2} \text{ m}$ $1 \text{ mm} = 10^{-1} \text{ cm} = 10^{-3} \text{ m}$ $1 \text{ } \mu\text{m} = 10^{-3} \text{ mm} = 10^{-4} \text{ cm} = 10^{-6} \text{ m}$ $1 \text{ nm} = 10^{-3} \text{ } \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ mm} = 10^{-7} \text{ cm} = 10^{-9} \text{ m}$
Objętość	m^3	$1 \text{ L} = \text{dm}^3 = 10^{-3} \text{ m}^3$ $1 \text{ mL} = \text{cm}^3 = 10^{-3} \text{ dm}^3 = 10^{-6} \text{ m}^3$ $1 \text{ } \mu\text{L} = \text{mm}^3 = 10^{-3} \text{ cm}^3 = 10^{-6} \text{ L} = 10^{-9} \text{ m}^3$
Stężenie	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$	Procent masowy: $c_{\%} = \frac{m_a}{m_{pr}} \cdot 10^2$ Część na milion: $c_{ppm} = \frac{m_a}{m_{pr}} \cdot 10^6$ Część na miliard: $c_{ppb} = \frac{m_a}{m_{pr}} \cdot 10^9$ Stężenie molowe: $c = \frac{n_a}{v_{pr}}, \text{ M, mol/dm}^3$ Ułamek molowy: $= \frac{n_a}{\sum n_{pr}}, \text{ mol/mol}$ Stężenie masowo-objętościowe: $c = \frac{m_a}{v_{pr}},$ $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} = \text{mg/dm}^3 = \mu\text{g/mL} = \mu\text{g/cm}^3 = 10^{-3} \text{ g/dm}^3$ $1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1} = \text{ng/dm}^3 = 10^{-3} \mu\text{g/dm}^3 = 10^{-6} \text{ mg/dm}^3 = 10^{-9} \text{ g/dm}^3$ $1 \text{ ng} \cdot \text{cm}^{-3} = 10^{-3} \mu\text{g/cm}^3 = 10^{-6} \text{ mg/mL}$ Stężenie masowo-masowe: $c = \frac{m_a}{m_{pr}}$ $1 \text{ ng/g} = 10^{-3} \mu\text{g/g} = 10^{-6} \text{ mg/g} = 10^{-9} \text{ g/g} = 1 \mu\text{g/kg} = 10^{-3} \text{ mg/kg}$

m_a – masa analitu, m_{pr} – masa próbki, n_a – liczba moli analitu, v_{pr} – objętość próbki, n_{pr} – suma liczby moli wszystkich składników próbki.

4. Podział metod wyodrębniania i oczyszczania analitów

Większość metod analitycznych nie jest dostatecznie czuła do bezpośredniego oznaczania śladowych zanieczyszczeń. Poza tym, w metodach analitycznych głównie używa się próbek ciekłych lub gazowych, co wymaga, szczególnie w przypadku próbek stałych, wprowadzenia częściowego lub całkowitego oddzielenia analitów od matrycy przed przystąpieniem do analizy właściwej. W tym celu stosuje się frakcjonowanie, wydzielanie oznaczanych składników oraz ich zagęszczanie dla zatężenia

analitu do ilości powyżej granicy oznaczalności stosowanej metody analitycznej oraz uproszczenia matrycy przez zastąpienie matrycy pierwotnej wybranym rozpuszczalnikiem lub gazem.

Szereg operacji, w których wyniku wzrasta stosunek stężeń lub ilości mikroskładników (substancji oznaczanych) do makroskładników (matrycy) próbki nosi ogólną nazwę **zagęszczania analitu.**

Proces zagęszczania prowadzi do:

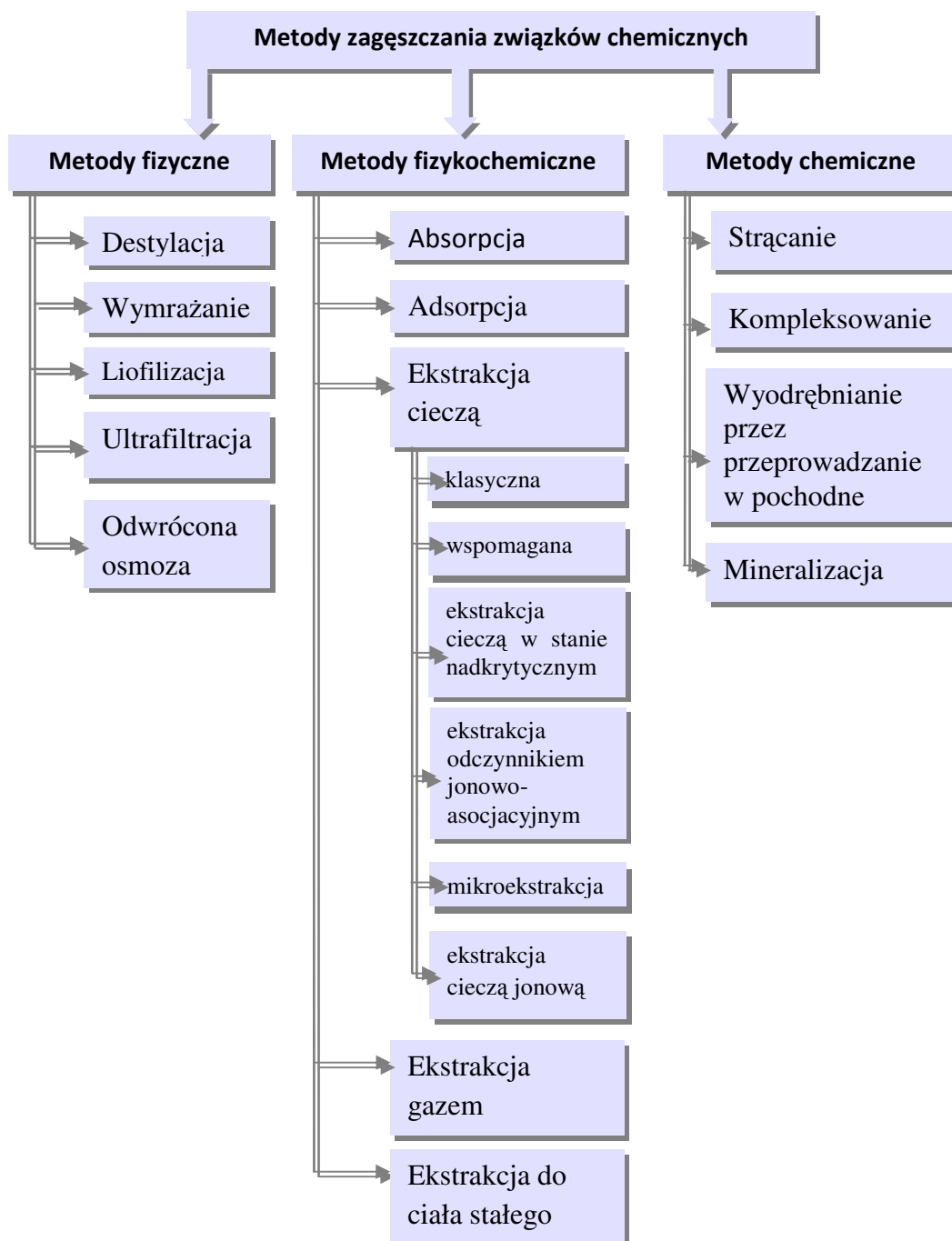
- **nadania próbce odpowiednich cech fizycznych,**
- **usunięcia z niej składników przeszkadzających w analizie właściwej,**
- **utrwalenia składu próbki, głównie składników oznaczanych,**
- **przeniesienia analitów z matrycy pierwotnej do tzw. matrycy odbierającej,**
- **zwiększenia stężenia lub ilości analitów.**

Osiągnięcie wymienionych celów można uzyskać wieloma metodami, których ogólny podział przedstawiono na rysunku 25.

5. Metody fizyczne zagęszczania związków chemicznych

Zagęszczanie substancji metodami fizycznymi jest proste, niewymagające skomplikowanego sprzętu, ale nie jest selektywne, dlatego jest wykorzystywane głównie do wstępnego zagęszczania.

W przypadku wieloskładnikowych, ciekłych mieszanin stosuje się **destylację**, w której rozdział oparty jest na różnicy lotności składników. W analizie zanieczyszczeń środowiska destylacja jest podstawowym sposobem zateżania ekstraktów. Można ją stosować do związków organicznych i nieorganicznych, pod warunkiem, że są nielotne i trwałe w temperaturze destylacji. Temperaturę odparowywania można obniżyć, stosując destylację pod zmniejszonym ciśnieniem (szczególnie w przypadku roztworów wodnych lub wysokowrzących rozpuszczalników). Najczęściej do tego celu stosowane są wyparki próżniowe, poza tym stosowane są różne zestawy do odparowywania małych ilości rozpuszczalników, zestawy do odparowywania rozpuszczalników z zabezpieczeniem związków lotnych itp., (np. aparat Kuderny-Danisha). Niekiedy rozdzielana mieszanina składa się z substancji o niewielkiej różnicy lotności lub substancje tworzą azeotrop i rozdział jest niemożliwy, w takim przypadku do rozdzielanej mieszaniny można wprowadzić sól lub inną substancję, nazywaną **odczynnikiem azeotropującym**, która powoduje znaczne zmiany we wzajemnej lotności pierwotnych składników mieszaniny. Wśród czynników azeotropujących znalazły zastosowanie również **ciekle w temperaturze pokojowej ciecze jonowe** (patrz roz. 7.3.1.1. Ekstrakcja cieczami jonowymi).



Rysunek 25. Podział metod przygotowania próbek do analizy właściwej

Metodę **wymrażania** stosuje się do zwiększania stężenia analitów organicznych w roztworach wodnych oraz do wyłapywania lotnych związków organicznych z próbek gazowych. W wychłodzonym roztworze wodnym woda częściowo zamraża natomiast związki organiczne pozostają w fazie ciekłej. Pozbycie się części wody w postaci lodu zwiększa stężenie substancji organicznych w fazie ciekłej. Wymrażanie można stosować do zateżniania wielu związków organicznych w roztworach wodnych, zwłaszcza trudnolotnych i/lub nietrwałych termicznie. Główne straty w metodzie wymrażania wynikają z okluzji i adsorpcji. Metoda ta często jest stosowana do izolacji preparatów biochemicznych. Wyłapywanie lotnych związków organicznych z próbek gazowych odbywa się w tzw. **pułapkach kriogenicznych**. Są to rurki kapilarne, puste lub

pokryte od wewnątrz substancją sorpcyjną. Rurki umieszczone są w termostacie, gdzie są schładzane ciekłym azotem (w temp. -196°C). Gaz przechodzi przez rurkę, a substancja organiczna osadza się na jej wewnętrznej powierzchni, skąd może być usunięta przez podgrzanie. Metoda ta jest używana w technice ekstrakcji gazem bardzo lotnych substancji organicznych z próbek wodnych. Jest również stosowana do przechowywania lotnych związków.

Usuwanie wody z zamrożonej próbki przez sublimację pod próżnią nazywa się **liofilizacją**. Jest to metoda powolna i energochłonna, ale skuteczna, zarówno dla związków organicznych i nieorganicznych, szczególnie dla niestabilnych termicznie. Nie można jej stosować do zatężania związków lotnych.

Sączenie próbek ciekłych przez filtry o średnicy porów mniejszej niż $0,02\ \mu\text{m}$ nazywa się **ultrafiltracją** i stosowane jest to rozdzielania materii organicznej zawieszonych w próbce. Stosując filtry o różnej wielkości porów można substancje zawieszone podzielić na kilka frakcji, w zależności od ich masy molowej (ultrafiltracja sekwencyjna). Ruch próbki przez filtr wymuszany jest nadciśnieniem gazu obojętnego i wspomagany mieszaniem, aby zapobiec koagulacji i zatykaniu się porów.

Jeśli przez membranę półprzepuszczalną tłoczy się rozpuszczalnik z roztworu o wyższym stężeniu do roztworu o niższym stężeniu substancji rozpuszczonej, to roztwór o wyższym stężeniu zatęże się, a roztwór o niższym stężeniu ulega rozcieńczeniu. Proces taki nazywa się **odwróconą osmozą**. Do odwróconej osmozy stosuje się membrany **przepuszczające cząsteczki o masie molowej mniejszej niż 200 Da**, dlatego metoda ta nie służy do zagęszczania substancji o małych masach cząsteczkowych.

6. Metody chemiczne zagęszczania analitów

6.1. Tworzenie pochodnych analitów dla ich wydzielenia

Wydzielanie substancji w postaci kompleksów, łatwych do oddzielenia od reszty próbki może być skuteczną metodą zatężania, pod warunkiem, że istnieje związek chemiczny, który łatwo i ilościowo tworzy kompleks z analitem. Próbkę przepuszcza się przez roztwór zawierający odczynnik kompleksujący. Powstały kompleks oddziela się od próbki, a analit uwalnia z kompleksu przez jego rozkład. Czysty analit wydziela się najczęściej przez ekstrakcję.

Analit można też wydzielić z próbki w postaci **trudno rozpuszczalnego związku**. Próbkę miesza się z roztworem substancji reagującej. Po wytrąceniu i wydzieleniu osad rozkłada się, a uwolniony analit ekstrahuje rozpuszczalnikiem. Wytrącanie trudno rozpuszczalnego osadu często odbywa się podczas sączenia przez filtr zaimpregnowany odczynnikiem strącającym.

6.2. Derywatyzacja – tworzenie pochodnych dla analizy

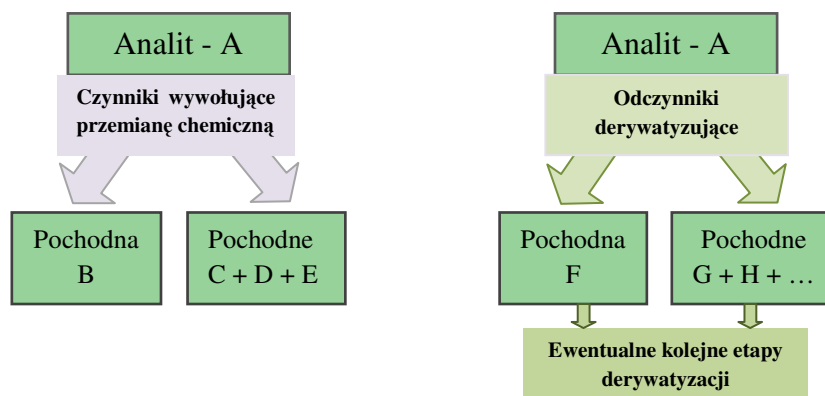
W próbkach środowiskowych większość matryc jest skomplikowana i bogata w substancje o różnym charakterze chemicznym. **Niekiedy substancje matrycy uniemożliwiają oznaczenie analitu w jego natywnej postaci i dopiero utworzenie, w wyniku reakcji chemicznej odpowiedniej pochodnej, o właściwościach dogodnych dla stosowanej techniki analitycznej, pozwoli na jego oznaczenie**. Proces przeprowadzania analitu w substancję o innych właściwościach nazywa się **tworzeniem pochodnych** lub **derywatyzacją** i jest często stosowany,

zwłaszcza przy oznaczaniu związków polarnych i jonowych (np. alkoholi, kwasów karboksylowych, cukrów, amin, aminokwasów i innych).

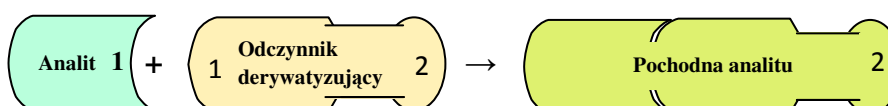
W wyniku derywatywacji można uzyskać z analitu związek:

- **mniej reaktywny, przez zablokowanie aktywnych grup funkcyjnych,**
- **bardziej trwały termicznie,**
- **bardziej lotny lub mniej lotny,**
- **mniej polarny,**
- **barwny, odpowiedni do kolometrycznych oznaczeń,**
- **łatwiejszy do detekcji, przez wprowadzenie odpowiednich grup funkcyjnych.**

Tworzenie pochodnych może odbywać się **bez odczynnika derywatyzującego** (reakcje termiczne, katalityczne, fotochemiczne, elektrochemiczne) lub **z zastosowaniem odczynnika chemicznego** (rysunek 26). Odczynnik derywatyzujący powinien łatwo tworzyć pochodną (być reaktywny), nie powodować reakcji ubocznych, zwiększać hydrofobowość i wprowadzać tzw. **grupę sygnałową**, czyli tę część molekuly, która ułatwia detekcję analitu, np. **grupę chromoforową** czy **fluoroforową**. Grupa chromoforowa to ta część cząsteczki, która jest odpowiedzialna za **intensywną absorpcję promieniowania elektromagnetycznego w zakresie UV-Vis**; grupa fluoroforowa wywołuje **fluorescencję**. Schemat reakcji spochadniania za pomocą takiego odczynnika pokazano na rysunku 27. W trakcie reakcji części reaktywne analitu i odczynnika („1”) zostają zablokowane, przez co pochodna ma mniejszą polarność, poza tym uzyskuje grupę sygnałową („2”). Zwiększanie hydrofobowości analitu ułatwia jego rozdział od matrycy w dalszych etapach analizy, np. metodami chromatograficznymi.

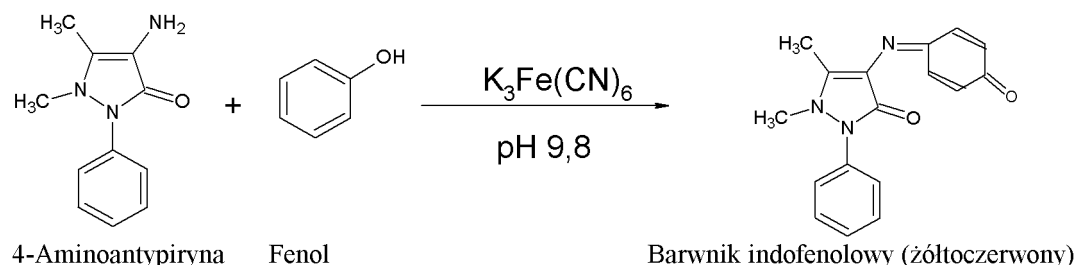


Rysunek 26. Schemat metod derywatywacji



Rysunek 27. Schemat derywatywacji analitu; „1”- część reaktywna odczynnika derywatyzującego i analitu, „2”-grupa sygnałowa odczynnika derywatyzującego

Przykładem derywatywacji analitu w celu jego wydzielenia i oznaczenia ilościowego jest spektrofotometryczne oznaczanie fenoli w wodzie w postaci pochodnej indofenolowej, otrzymanej w reakcji fenolu z 4-aminoantypiryną. Reakcja przebiega w środowisku zasadowym, w obecności heksacyjanożelazianu(III) potasu (rysunek 28). Otrzymana pochodna jest mniej polarna od fenolu (zablokowana grupa fenolowa) i od 4-aminoantypiryny (zablokowana grupa aminowa), łatwo ekstrahowana z wody chloroformem i oznaczana spektrofotometrycznie, przy długości fali $\lambda = 460$ nm z dużą czułością (wysoka wartość molowego współczynnika absorpcji).

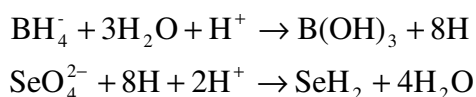


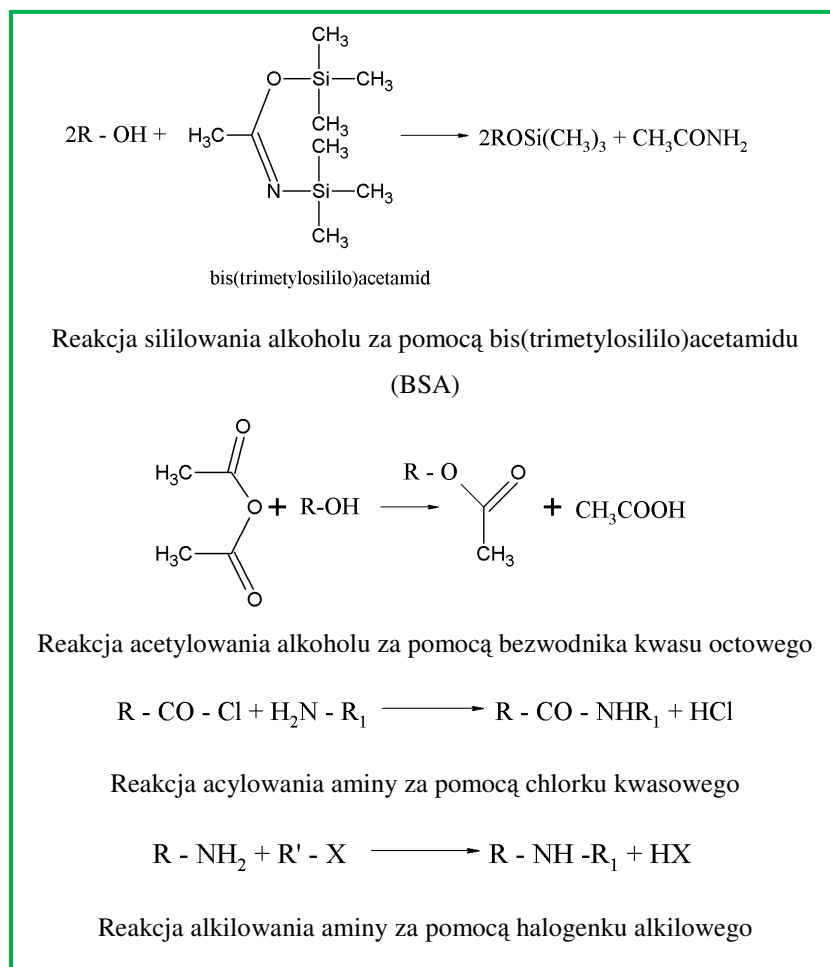
Rysunek 28. Schemat reakcji fenolu z 4-aminoantypiryną

Poza charakterystycznymi dla poszczególnych analitów pochodnymi, w analityce substancji organicznych stosuje się związki, powstające w reakcjach znanych pod ogólnymi nazwami, jak: **sililowanie, acylowanie, alkilowanie czy kondensacja ketonowo-zasadowa**. W analityce związków nieorganicznych stosuje się **reakcje tworzenia wodorków, etylowanie czy alkilowanie z wykorzystaniem odczynnika Grignarda**.

Związki organiczne, takie jak cukry, aminokwasy, kwasy tłuszczowe, alkohole, steroidy i inne, zawierające w cząsteczkach grupy $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$ są nietolne i często nietrwałe. Zastąpienie atomów wodoru grupą sililową (najczęściej **trimetylosililową**) lub acylową (najczęściej **acetylową**), zwiększa lotność substancji i jej trwałość, co jest szczególnie korzystne w analizach chromatograficznych. Z podobnych powodów przeprowadza się estryfikację kwasów tłuszczowych oraz alkilowanie amin. Niektóre sposoby derywatywacji przedstawiono na rysunku 29.

Przykładem wydzielenia i oznaczenia ilościowego analitów w postaci pochodnych w analityce związków nieorganicznych jest oznaczanie niektórych pierwiastków w postaci wodorków techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA). Takie pierwiastki jak: Se, Te, As, Sb, Bi, Ge, Sn i Pb w roztworach kwaśnych, pod wpływem silnego środka redukującego, jakim jest borowodorek sodu (NaBH_4), tworzą lotne wodorki, z których łatwo otrzymuje się wolne atomy, oznaczane następnie techniką ASA. Zaletą techniki wodorkowej jest możliwość wydzielenia oznaczanego pierwiastka z matrycy i wprowadzenia do kuwety spektrometru ASA w postaci czystej. Reakcję tworzenia wodorku selenu przedstawiono poniżej:





Rysunek 29. Przykłady reakcji derywatywacji zwiększających lotność i trwałość substancji organicznych

6.3. Mineralizacja

Szeroko stosowanym sposobem pozyskiwania analitów w dogodnej postaci chemicznej jest **mineralizacja**, stosowana przy oznaczaniu pierwiastków, zwłaszcza metali ciężkich.

Mineralizacja (pokrewne określenia to **dekompozycja, destrukcja, roztwarzanie, rozkład, spopielenie**) jest zespołem procesów, w których związki organiczne przekształcane są w proste związki mineralne takie, jak: CO_2 , H_2O , NH_3 i inne, a nieorganiczne - w formy rozpuszczalne.

W środowisku naturalnym procesy mineralizacji zachodzą z udziałem najczęściej organizmów żywych (bakterii, robaków i in.), w przypadku mineralizacji z dostępem tlenu mówimy o **butwieniu**, w warunkach beztlenowych zaś o **gniciu**.

W chemii analitycznej, mineralizacja próbki stałej prowadzi do otrzymania związków mineralnych, które łatwo przeprowadza się ilościowo do roztworu. Podczas mineralizacji ogólna struktura poszczególnych części próbki, w tym minerałów, ulega destrukcji. Wybór sposobu mineralizacji zależy od rodzaju analizowanej próbki i od oznaczanego pierwiastka. **Mineralizacja musi zachodzić ilościowo, a matryca odbierająca nie może przeszkadzać w analizie właściwej.** Poza tym proces

rozkładu powinien zachodzić szybko, z możliwością automatyzacji i być tani. Do najważniejszych sposobów mineralizacji zaliczamy **mineralizację na mokro** oraz **mineralizację na sucho**, a każdą z nich można przeprowadzić metodą **redukcyjną lub utleniającą**.

Najczęściej stosowaną metodą uzyskiwania analitów w postaci dogodnej do oznaczenia jest **mineralizacja utleniająca mokra**. W tej technice używa się mieszaniny jednego lub kilku kwasów mineralnych (najczęściej: HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 , HF) oraz związku o właściwościach utleniających (np. H_2O_2). Jako dodatki stosuje się azotany(V): $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 , NaNO_3 , jak również HBr , HCl , H_3PO_4 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$ i HCOOH . Rozkład próbki następuje pod wpływem tlenu, uwalniającego się podczas ogrzewania kwasów. Przykładem mineralizacji utleniającej mokrej jest metoda Kjeldahla, wykorzystywana głównie do oznaczania azotu organicznego. Mineralizację w kwasie azotowym z dodatkiem kwasu nadchlorowego lub wody utlenionej stosuje się do pozyskiwania metali, boru, fosforu, siarki i chlorowców z próbek organicznych. Do rozkładu próbek gleb lub osadów, dla oznaczania metali ciężkich, stosuje się mieszaninę królewską, składającą się z 1 części kwasu chlorowodorowego i 3 części kwasu azotowego, roztwór kwasu chlorowodorowego (rozcieńczony 5x), roztwór stężonego kwasu azotowego z dodatkiem 30%-owego H_2O_2 oraz kwas fluorowodorowy z dodatkiem innych kwasów.

Mineralizacja jest procesem długotrwałym, dlatego wspomagana jest:

- **podwyższoną temperaturą,**
- **promieniowaniem UV, jako katalizatorem reakcji utleniania,**
- **promieniowaniem ultradźwiękowym (wykorzystanie zjawiska kawitacji),**
- **promieniowaniem mikrofalowym, jako nośnikiem energii docierającym bezpośrednio do cząsteczki związku mineralizowanego,**
- **podwyższonym ciśnieniem.**

Mineralizację „na sucho” stosuje się kilkoma metodami:

- **poprzez spopielenie**, polegające na powolnym rozkładzie próbki w temperaturze $400\div 600^\circ\text{C}$ a następnie roztworzeniu powstałego popiołu w kwasie,
- **poprzez mineralizację w plazmie tlenowej** (tzw. spopielenie czyste), którą uzyskuje się w temperaturze $80\div 200^\circ\text{C}$ przez działanie pola elektromagnetycznego o częstotliwości ponad 27MHz,
- **poprzez utlenianie pod normalnym ciśnieniem tlenu**, w tzw. butli Schönigera lub pod podwyższonym ciśnieniem tlenu, w bombie tlenowej, np. bombie Paara,
- **poprzez stapianie z solami mineralnymi o właściwościach utleniających**, jak NaNO_3 , KNO_3 , Na_2CO_3 , zwanymi topnikami, ułatwiającymi rozpuszczanie próbek w kwasach lub wodzie,
- **poprzez utlenianie w strumieniu czystego tlenu**, przepływającego nad próbką umieszczoną w rurze kwarcowej podgrzanej do temperatury $800\div 1000^\circ\text{C}$ – tzw. rozkład w układzie dynamicznym, stosowany w organicznej analizie elementarnej; anality (C, H, N, O, S) wychwytywane są z gazu techniką absorpcji.

Techniki rozkładu próbek „na sucho” stosowane są rzadziej niż techniki rozkładu „na mokro”.

6.4. Analiza specjacyjna

Pierwiastki obecne w środowisku występują w różnych formach chemicznych i fizycznych. Występują zarówno w postaci stałej jak i rozpuszczonej. W roztworach występują w postaci hydratowanych jonów, kompleksów organicznych i nieorganicznych oraz różnego rodzaju asocjatów. Metale występują na więcej niż jednym stopniu utlenienia. Różne formy pierwiastków są zaadsorbowane przez cząstki ilów, są związane z żelazem, manganem lub związkami wapnia i in., a połączenie ich z matrycą mineralną można uszeregować od słabej adsorpcji do wiązania kowalencyjnego.

Wiedza o formach pierwiastka występujących w danym elemencie środowiska ma ogromne znaczenie, ponieważ **toksyczność, ruchliwość, bioprzyswajalność i bioakumulacja zależą od jego chemicznej formy.**

Identyfikacja i ilościowe oznaczanie form fizycznych i chemicznych pierwiastka łącznie z jego całkowitym stężeniem w próbce nazywa się analizą specjacyjną (ang. *speciation analysis*).

Współistnienie wszystkich form danego pierwiastka w badanym materiale nazywa się specjacją.

Podstawowym celem analizy specjacyjnej jest określenie toksycznego i ekotoksycznego działania poszczególnych pierwiastków. **Sposób oddziaływania toksycznego pierwiastków na wodę, glebę, osady oraz na ludzi, zwierzęta i rośliny jest bardzo zależny od ich formy chemicznej.** Działanie toksyczne, np. metali jest silniej związane z ich formą chemiczną niż z całkowitym stężeniem. Na bioprzyswajalność różnych form pierwiastków wpływa również ich rozmieszczenie w poszczególnych elementach środowiska naturalnego. Analizę specjacyjną wykonuje się w kontroli produktów żywnościowych, badaniu leków i innych produktów farmaceutycznych, w kontroli procesów technologicznych, kontroli stanowisk pracy i in. Badania specjacji są wykonywane również dla poznania pełnych cykli biogeochemicznych poszczególnych pierwiastków.

Analiza specjacyjna nastrocza dużo trudności. Pierwszym problemem jest stężenie pierwiastków, już całkowite bywa często bliskie progu detekcji a jeszcze jest zmniejszane przez podział na frakcje. Poza tym, niektóre formy pierwiastków pozostają w równowadze z innymi, obecnymi w próbce, dlatego warunki ekstrakcji muszą być takie, aby nie naruszyć ogólnej równowagi lub przynajmniej w nieznacznym stopniu. W analizie specjacyjnej wykorzystuje się wszystkie dostępne techniki rozdzielania, w tym techniki ekstrakcyjne. Do izolacji różnych form pierwiastków stosuje się **ekstrakcję chemiczną**, polegającą na traktowaniu próbki odczynnikami lub odczynnikami symulującymi warunki środowiskowe naturalne lub zmienione antropogenicznie.

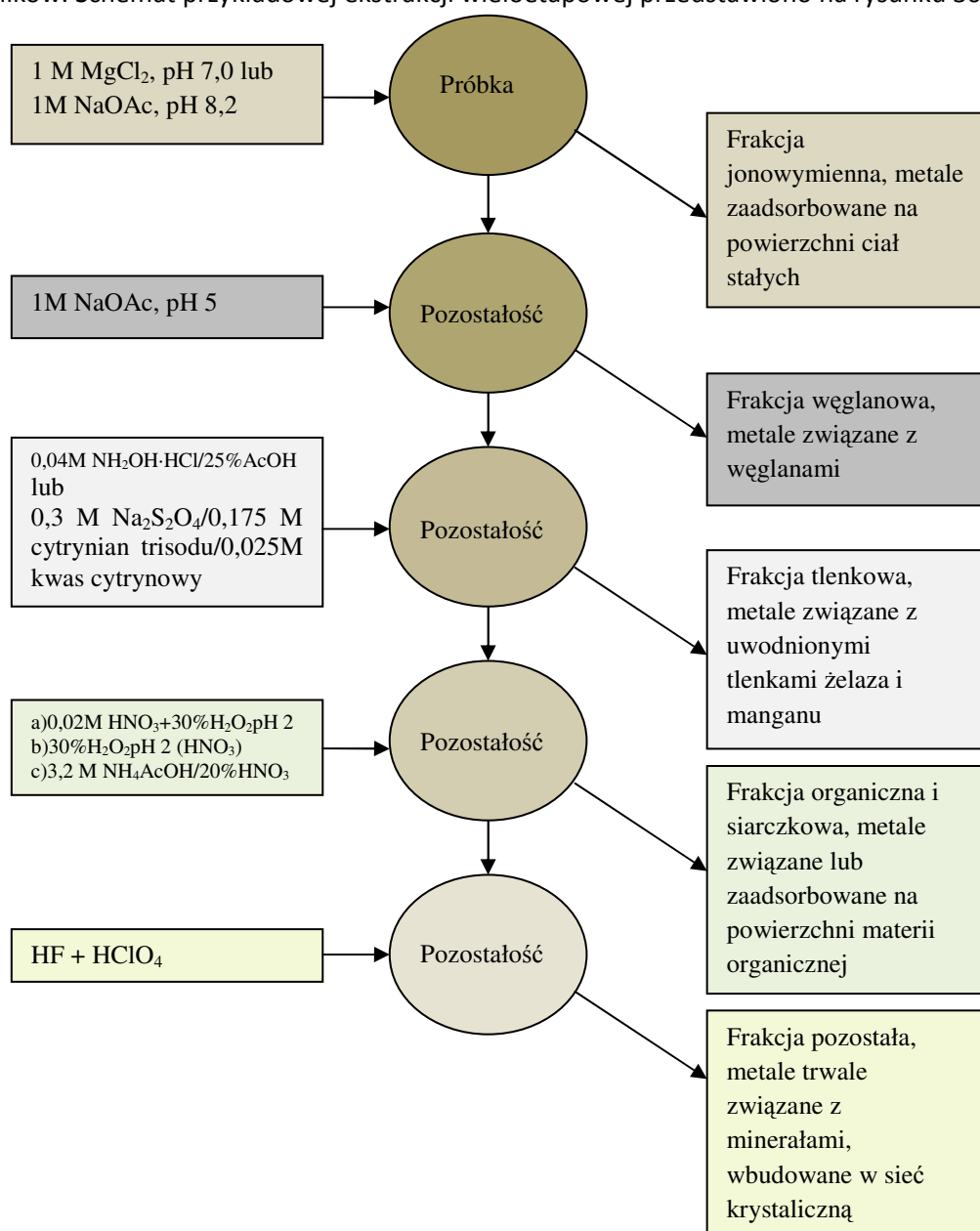
Ekstrakcja może być **jednoetapowa lub wieloetapowa. Ekstrakcję jednoetapową** przeprowadza się odczynnikiem, który podobnie jak w naturze, umożliwia przechodzenie metali do gleby, wód czy roślin. Jest to najczęściej roztwór o odczynie obojętnym i o dużej sile jonowej lub kompleksujący, powodujący uwalnianie zaadsorbowanych składników, np.:

- **niebuforowane roztwory soli** (CaCl_2 , NaNO_3 , NH_4NO_3 , BaCl_2),
- **roztwory buforowe** ($\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$),
- **roztwory związków kompleksujących** (kwas etylenodiaminotetraoctowy EDTA, kwas dietylenotriaminopentaoctowy DTPA, $\text{EDTA-AcOH}/\text{NH}_4\text{OAc}$, DTPA + trietanolamina, TEA).

Ekstrakcja wieloetapowa polega na kolejnych ekstrakcjach roztworami o wzrastającej sile ługowania i może być prowadzona **równolegle** oraz **sekwencyjnie**. Ekstrakcje równoległe prowadzi się, aby wyeliminować wpływ innych odczynników. Ekstrakcja sekwencyjna polega na roztwarzaniu i ługowaniu tej samej próbki kolejno różnymi odczynnikami, którymi najczęściej są, stosowane w kolejności:

- **niezbuforowane roztwory soli,**
- **roztwory buforowe lub roztwory słabych kwasów,**
- **roztwory związków redukujących,**
- **roztwory związków utleniających,**
- **mocne kwasy.**

Ekstrakcje wieloetapowe przeprowadzane są wg różnorodnych procedur i z zastosowaniem różnych odczynników. Schemat przykładowej ekstrakcji wieloetapowej przedstawiono na rysunku 30.



Rysunek 30. Schemat ekstrakcji sekwencyjnej wg A. Tessiera i wsp.

Dla umożliwienia porównywania wyników, Komisja Unii Europejskiej w ramach Programu Pomiarów i Testowania (*Standard Measurement and Testing Programme, SM&T*) przyjęła wspólne procedury ekstrakcji metali ciężkich z gleb mineralnych, zarówno dla metody jednoetapowej jak i sekwencyjnej. Do izolacji Cd, Pb, Cr, Ni, Cu, i Zn zatwierdzono 0,43 M kwas octowy i 0,005 M EDTA. Zatwierdzone przez SM&T warunki ekstrakcji sekwencyjnej przedstawiono w tabeli 10.

Tabela 10. Schemat procedury analizy sekwencyjnej wg europejskiego programu standaryzacji SM&T

Etap ekstrakcji	Frakcja metali (śladów)	Skład wodnego roztworu ekstrahującego c[mol L ⁻¹]
1	Jonowymienna i węglanowa	CH ₃ COOH (0,11)
2	Tlenkowa	NH ₂ OH·HCl (0,1) przy pH 2 (HNO ₃)
3	Organiczna i siarczkowa	H ₂ O ₂ (8,8) przy pH 2(HNO ₃) następnie CH ₃ COONH ₄ (1.0), pH 2

7. Fizykochemiczne sposoby przygotowania próbek

7.1. Absorpcja

Zjawisko **absorpcji** wykorzystywane jest do izolacji substancji z próbek gazowych. Technika ta nazywana jest **ekstrakcją gaz - ciecz** (ang. *gas liquid extraction, GLE*).

Ekstrakcja próbek gazowych cieczą polega na **absorpcji** izolowanych z próbki substancji gazowych w cieczy, pod warunkiem, że są one w niej rozpuszczalne lub bardziej rozpuszczalne w odróżnieniu od pozostałych składników próbki. Mieszaninę gazową (próbkę) przepuszcza się przez określony rozpuszczalnik. W trakcie tego procesu rozpuszczalne składniki próbki są absorbowane i skład mieszaniny gazowej opuszczającej ciecz jest inny niż skład mieszaniny wejściowej. Proces absorpcji zachodzi w całej objętości cieczy. Przenoszenie mas polega na **dyfuzji** cząsteczek substancji w obu fazach (gazowej i ciekłej) poprzez warstwę graniczną, wywołanej różnicą stężenia substancji w obu fazach.

Różnica stężeń składnika absorbowanego jest siłą napędową dyfuzji, im większa różnica stężeń tym większa szybkość dyfuzji. W płynie nieruchomym jest to dyfuzja cząsteczkowa, przy przepływie cieczy jest to dyfuzja burzliwa.

Przenikanie cząsteczek substancji przez **warstwę graniczną**, czyli strefę przyległą do powierzchni międzyfazowej i **powierzchnię międzyfazową** (granicę faz) **zależy od szybkości przenikania i od wielkości powierzchni**. Zwiększenie powierzchni międzyfazowej uzyskuje się przez mieszanie, zastosowanie bełkotki lub rozpylanie oraz przez rozpraszanie na wypełnieniach o różnych kształtach. Etap dyfuzji można wydłużyć, stosując odpowiednio długi czas ekstrakcji.

Ekstrakcję gazu przez absorpcję stosuje się do próbek o stężeniu analitu do kilku procent, pod warunkiem, że ekstrahowany gaz bardzo dobrze rozpuszcza się w cieczy ekstrahującej. Ciecz (medium ekstrahujące) nazywa się **absorbentem**, składnik gazowy ekstrahowany z próbki gazowej – **absorbatem**, urządzenie, w którym zachodzi absorpcja nazywa się **absorberem**. Zadaniem absorbera

jest zwiększenie powierzchni międzyfazowej. Ze względu na sposób rozwijania (zwiększania) powierzchni międzyfazowej absorbery dzieli się na:

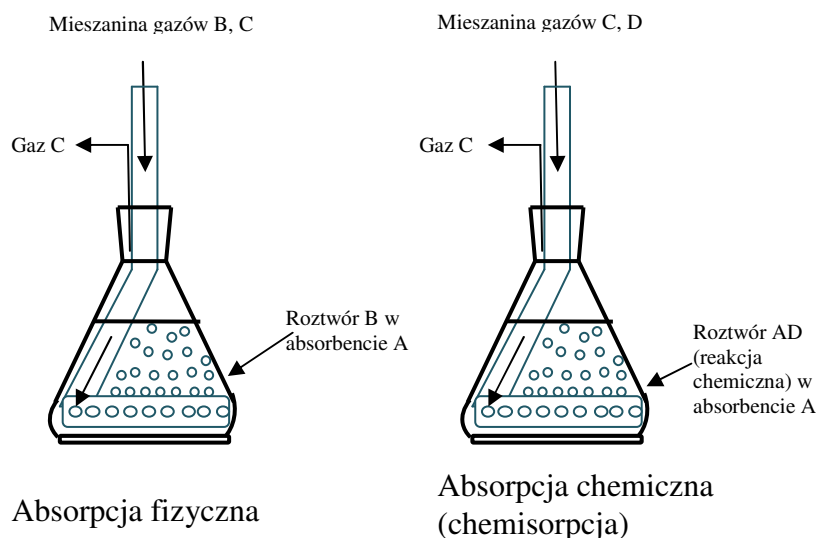
- **płuczki** lub zestaw płuczek z absorbentem (najprostszy absorber), przez które przepuszcza się gaz,
- **powierzchniowe**, w których powierzchnia kontaktu jest tylko powierzchnią swobodną cieczy a gaz płynie w przeciwnym kierunku do cieczy,
- **blonkowe**, w których ciecz spływa cienką warstwą po wewnętrznej powierzchni rury lub po szeregu pionowych płyt lub kaskad o rozwiniętej powierzchni, umieszczonych w komorze,
- **absorbery barbotażowe**, w których gaz wprowadzany jest do cieczy absorbującej w postaci pęcherzyków wytwarzanych za pomocą bełkotki,
- **absorbery rozpryskowe – skrubery**, w których absorbent jest rozpraszany w przeciwnym kierunku do gazu,
- **kolumny z wypełnieniem (skrubery z wypełnieniem)**, gdzie wypełnieniem są elementy o różnym kształcie i rozmiarze, po których spływa ciecz ekstrahująca.

Absorbery rozpryskowe – skrubery, stosuje się w przypadku dobrze rozpuszczalnych w cieczy absorbentów. W takim przypadku największe opory przenoszenia masy są po stronie gazu, dlatego należy zastosować burzliwy przepływ gazu wśród kropeł cieczy. Gdy składnik gazowy słabo rozpuszcza się w cieczy należy zwiększyć turbulencję cieczy, co można osiągnąć stosując absorbery barbotażowe. Absorbery kolumnowe z wypełnieniem stosowane są w przypadku podobnych oporów przenoszenia masy po obu stronach granicy faz.

Podczas absorpcji, oprócz zjawiska fizycznego rozpuszczania, mogą zachodzić inne procesy, jak częściowa lub całkowita dysocjacja elektrolityczna oraz reakcja chemiczna.

W związku z tym wyróżnia się **absorpcję fizyczną (rozpuszczanie)**, obejmującą również dysocjację elektrolityczną, której w tym przypadku nie uważa się za reakcję chemiczną i **absorpcję chemiczną (chemisorpcję)**, (rysunek 31). Chemisorpcja może zachodzić pod wpływem absorbentu lub specjalnie dodanej do niego substancji. Absorbentami mogą być: rozpuszczalniki organiczne, woda, roztwory soli, kwasów, zasad, związki o właściwościach utleniająco-redukujących i in.

Rozdzielanie gazów przez ekstrakcję cieczą stosuje się do izolacji czystych gazów niezbędnych w wielu procesach chemicznych. Takimi gazami, stosowanymi w produkcji przemysłowej, w ochronie środowiska oraz w pracach naukowych są azot, wodór, hel, tlen, metan, dwutlenek węgla, chlor czy powietrze syntetyczne. Drugim bardzo ważnym zastosowaniem ekstrakcji cieczą jest oczyszczanie gazów przemysłowych i spalin, jak: odsiarczanie, usuwanie amoniaku, chloru, chlorowodoru, fluorowodoru, tlenków azotu i in. oraz dezodoryzacja gazów wylotowych. Niska rozpuszczalność gazów stanowi ograniczenie ekstrakcji cieczą, dlatego do oczyszczania gazów przemysłowych stosuje się przeważnie chemisorpcję.



Rysunek 31. Absorpcja fizyczna i chemiczna przy zastosowaniu płuczki z bełkotką

7.2. Adsorpcja

Zjawiska **adsorpcji** wykorzystywane jest w procesach izolacji substancji z próbek gazowych i ciekłych (patrz Część V, rozdz. 2.1. Chromatografia adsorpcyjna).

Adsorpcję próbek gazowych nazywa się też **ekstrakcją do fazy stacjonarnej próbek gazowych** (ang. *gas-solid extraction, GSE*). Rozdział substancji na sorbentach stałych może odbywać się poprzez **adsorpcję fizyczną, adsorpcję chemiczną, kondensację kapilarną** i in.

Adsorpcja fizyczna polega na zatrzymywaniu składników gazu na powierzchni zewnętrznej i wewnętrznej (w porach) adsorbentu w wyniku oddziaływań międzycząsteczkowych bliskiego zasięgu, jak siły Van der Waalsa czy wiązań wodorowych.

W wyniku tych oddziaływań najłatwiej adsorbują się cząsteczki gazów o dużej masie cząsteczkowej i niskiej temperaturze wrzenia. Małe cząsteczki gazu mają mniejszą energię wiązania z adsorbentem. Podczas adsorpcji, cząsteczki silniej wiążące się z adsorbentem wypierają słabiej związane. Ponieważ adsorpcja następuje na skutek oddziaływań bliskiego zasięgu między cząsteczkami składników gazu a cząsteczkami powierzchni adsorbentu, ilość zaadsorbowanych cząsteczek jest ograniczona i **adsorpcja fizyczna zachodzi do momentu całkowitego wykorzystania przez analit powierzchni zewnętrznej i wewnętrznej sorbentu**. Dlatego ważną cechą adsorbentu jest jego **powierzchnia właściwa**. Sorbent charakteryzuje się dwoma rodzajami powierzchni właściwej: **powierzchnią właściwą ziaren adsorbentu** i **powierzchnią właściwą złoża adsorbentu**.

Powierzchnia właściwa ziaren adsorbentu, zwana też **powierzchnią adsorpcyjną**, jest to stosunek całkowitej powierzchni zewnętrznej ziaren (granulek) i powierzchni porów do masy ziarna. Powierzchnia właściwa wyrażana jest zwykle w m^2/g . Powierzchnia adsorpcyjna zależy od objętości i struktury porów.

Powierzchnia właściwa złoża adsorbentu jest potrzebna do obliczania transportu masy substancji z gazu do powierzchni adsorbentu. Powierzchnię właściwą złoża adsorbentu oblicza się na podstawie masy pojedynczego ziarna i gęstości nasypowej złoża, po uwzględnieniu kształtu ziarna. Charakterystykę najczęściej stosowanych adsorbentów przedstawiono w tabeli 11.

W przypadku **adsorpcji chemicznej**, oddziaływanie cząsteczek adsorbentu z cząsteczkami powierzchni adsorbentu związane jest z przejściem elektronów, w czego wyniku energia wiązania cząsteczek na powierzchni jest tak duża, że zaadsorbowana substancja może być desorbowana tylko w postaci związku chemicznego lub usunięta jak substancja stała.

Tabela 11. Charakterystyka najczęściej stosowanych adsorbentów

Adsorbent	Właściwości fizyczne	Skład chemiczny i właściwości chemiczne	Zastosowanie
Żele krzemionkowe	Wąskoporowe (śred. 1,5 nm), pow. wł. 550÷700 m ² /g szerokoporowe (śred. 6 nm), pow. wł. 400÷530 m ² /g	SiO ₂ (99,71%) + Fe ₂ O ₃ , Al ₂ O ₃ , TiO ₂ , Na ₂ O, CaO, ZrO ₂ polarny, kwaśny, o dużej pojemności sorpcyjnej, wg klasyfikacji Kisieleva* - sorbent specyficzny dodatni	Osuszanie gazów, usuwanie polarnych zanieczyszczeń organicznych, np. alkoholi, fenolu, chlorofenoli, chlorobenzenów, amin aromatycznych i alifatycznych
Tlenek glinu (aluminożel)	Powierzchnia właściwa – 200÷250 m ² /g	Al ₂ O ₃ (92%) + H ₂ O, Na ₂ O, SiO ₂ , Fe ₂ O ₃ , TiO ₂ , polarny, kwaśny, wg klasyfikacji Kisieleva* - sorbent specyficzny dodatni	Usuwanie związków polarnych: alkoholi, glikoli, aldehydów, ketonów itp., osuszania powietrza, oczyszczanie z lotnych związków fluoru
Węgłe aktywne	Duża porowatość, posiadają makro-, mezo-, mikropory, pow. wł. – 700÷1200 m ² /g	Nazwy handlowe: Węgiel N, Węgiel A, Carbosorbit, Carbopol Z-O-4, niepolarny, wg klasyfikacji Kisieleva - niespecyficzny	Usuwanie z powietrza par związków organicznych, usuwanie SO ₂ z gazów spalinowych
Sorbent cząsteczkowy (zeolit)	Duża porowatość, pory jednorodnie o średnicy 0,3÷1,1 nm, pow. wł. – 700÷1100 m ² /g	Glinokrzemiany metali jednowartościowych, sita molekularne, typ A, X, Y, polarne, wg klasyfikacji Kisieleva- sorbent specyficzny dodatni	Osuszanie wodoru, powietrza, gazów szlachetnych, usuwanie NH ₃ , H ₂ S, SO ₂ , CO ₂ , n-alkany, dieny, etyloamina, benzen, naftalen, proste związki heterocykliczne, chlorowcowęglowodory
Polimery porowate	Duża porowatość, wąskoporowate, pow. wł. kilkaset m ² /g	Niepolarne, niespecyficzne: XAD-2, XAD-4, Porapak(P,Q), Chromosorb(101, 102) Polarne, specyficzny ujemny: Chromosorb 104, Vinylosorb N, XAD-11, Amberlite IRC-50	Usuwanie zanieczyszczeń organicznych, kwasów i zasad organicznych, fenoli, związków organicznych z wieloma grupami funkcyjnymi

„*”- klasyfikacja chemicznego charakteru powierzchni wg Kisielewa: niespecyficzne (niepolarne, neutralne i hydrofobowe, na powierzchni nie znajdują się jony ani grupy funkcyjne), specyficzne dodatnie (polarne, na powierzchni znajdują się skupione ładunki dodatnie), specyficzne ujemne (polarne, na powierzchni znajdują się rozłożone ładunki ujemne).

Przy doborze adsorbentu do rozdziału mieszanin gazowych należy **uwzględnić**:

- **charakter chemiczny izolowanych substancji,**
- **charakter chemiczny adsorbentu** odpowiadający właściwościom rozdzielanych gazów,
- **pojemność sorpcyjną adsorbentu** (odpowiednia powierzchnia właściwa, wielkość porów),
- **metodę desorpcji** analitu z sorbentu,
- **czystość adsorbentu,**
- **trwałość analitu na wybranym sorbencie** (możliwość zmian chemicznych analitu).

Proces adsorpcji może przebiegać w różnych warunkach: gaz poddawany adsorpcji może być jedno- lub wieloskładnikowy, adsorpcji ma ulegać jeden lub kilka składników gazu, adsorpcja może być prowadzona statycznie lub dynamicznie, złożę adsorbentu może być nieruchome lub ruchome itd. Warunki adsorpcji mają zdecydowany wpływ na jej całkowitą szybkość oraz szybkość poszczególnych jej etapów. **Całkowitą szybkość adsorpcji wyraża się przyrostem ilości adsorbującej się substancji [jednostka masy] w jednostce czasu.**

Adsorpcja statyczna stosowana jest w analityce do pobierania próbek gazowych (dozymetry pasywne). **Stosowanie metody statycznej nie wymaga urządzeń do zasysania gazu ani pomiaru jego objętości**, ruch cząsteczek gazu w kierunku fazy stacjonarnej jest swobodny (**dyfuzja cząsteczkowa**).

Adsorpcja dynamiczna wymaga zasysania gazu przez sorbent (np. przez rurkę sorpcyjną wypełnioną złożem sorbentu stałego lub kilku warstw różnych sorbentów) oraz **pomiaru objętości zasysanego gazu**. Jest często stosowana w analityce do oznaczania organicznych składników gazowych. Zatrzymane na adsorbencie składniki muszą być **uwalniane – desorbowane**. Rozdzielanie adsorpcyjne mieszanin gazowych można przeprowadzać dwoma sposobami:

- metodą **adsorpcji zmienno-temperaturowej**, polegającej na **adsorpcji w niskiej temperaturze** (adsorpcja jest procesem egzotermicznym, odprowadzanie ciepła zwiększa wydajność), natomiast **desorpcji i regeneracji adsorbentu w podwyższonej temperaturze**,
- metodą **adsorpcji zmienno-ciśnieniowej** („metoda bezgrzewcza”), polegającej na **adsorpcji w podwyższonym ciśnieniu, a desorpcji i regeneracji przy obniżonym ciśnieniu**.

W skali laboratoryjnej stosowana jest również desorpcja przez płukanie złoża gazem obojętnym lub innym, nieadsorbującym się na sorbencie oraz desorpcja rozpuszczalnikiem (ekstrakcja).

Adsorpcję dynamiczną na sorbentach stałych wykorzystuje się do izolacji związków z fazy gazowej, ponieważ znajdują się w dużej jej objętości. Pułapki z sorbentem stałym powinny zapewniać ilościowe wychwycenie składników oraz ilościowe i łatwe uwolnienie analitów. Sorbenty stałe powinny się charakteryzować określoną wytrzymałością termiczną i powierzchnią właściwą. W tabeli 12 przedstawiono zakres zastosowania najczęściej stosowanych sorbentów stałych, używanych w dynamicznej technice ekstrakcji gazem.

Tabela 12. Sorbenty stałe stosowane w dynamicznej technice ekstrakcji gazem (wg Namieśnik J., Jamrógiewicz Z., red., *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1998)

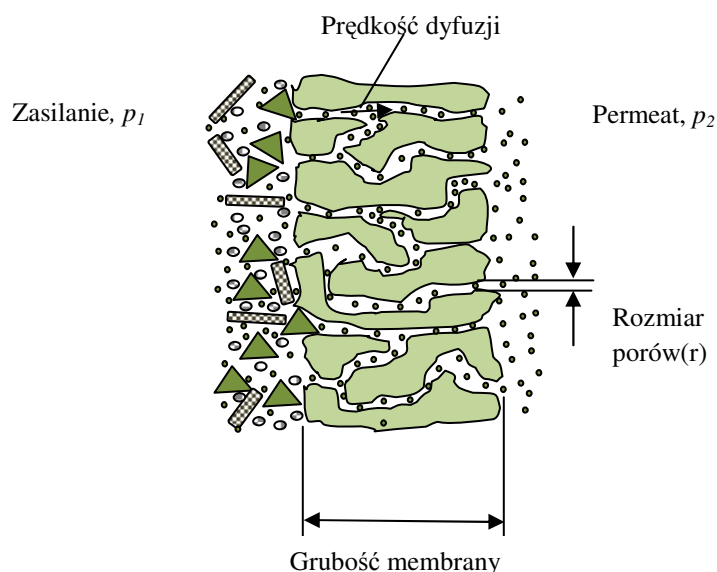
L.p.	Typ sorbentu	Zastosowanie
1.	Carbotrap B	Węglowodory C ₄ – C ₈
2.	Carbotrap C	Węglowodory od C ₄ do bifenyli
3.	Carbosieve S-II	Bardzo lotne związki organiczne
4.	Carbosieve S-III	Bardzo lotne związki typu chlorometan, chlorek winylu
5.	Carboxen	Lotne związki organiczne
6.	Tenax GC, Tenax TA	Węglowodory alifatyczne od C ₆ , węglowodory aromatyczne, policykliczne, aldehydy, fenole, aminy aromatyczne, nitrozwiązki i in.
7.	Tenax GR	Właściwości lepsze niż Tenax TA
8.	Węgiel aktywny	Bardzo lotne związki organiczne
9.	Żel krzemionkowy	Związki wysokowrzące

7.2.1. Ekstrakcja przez membrany porowate

Z procesem **adsorpcji** związana jest **ekstrakcja przez membrany porowate**, stosowana do selektywnego rozdziału składników mieszanin gazowych (gazów i par). Podstawą rozdziału na membranach porowatych jest proces **selektywnej adsorpcji** składników mieszanin gazowych na powierzchni i wewnątrz porów oraz **mechanizm wykluczania**. **Mechanizm wykluczania polega na dyfuzji przez membranę tych molekuł, których rozmiary odpowiadają średnicy porów.**

Udział obu mechanizmów w ekstrakcji przez membrany porowate zależy od wielkości porów. W **makroporach membran** (średnica > 50 nm) adsorpcja zachodzi w niewielkim stopniu, służą one głównie do transportu adsorbowanych substancji na powierzchni membrany do porów o mniejszych średnicach. Na powierzchni **porów przejściowych** (średnica 2 ÷ 50 nm), tzw. **mezoporów**, zachodzi adsorpcja. Średnica mezoporów jest większa niż zasięg sił adsorpcyjnych, dlatego zaadsorbowane molekuly mają dużą mobilność. Adsorpcja na powierzchni mezoporów może być **mono- lub polimolekularna**. Wewnątrz porów przejściowych możliwa jest również **kondensacja kapilarna**. Wykroplenie się składnika w kapilarze jest etapem rozdziału od trwałych składników gazowych. Membrany o **mikroporach** (średnicy < 2 nm), porównywalnych z rozmiarami cząsteczek mają największą selektywność, wynikającą z możliwości doboru rozmiarów porów i doboru ich charakteru chemicznego. Poza tym, w mikroporach zachodzi wiele zjawisk, jak: **dyfuzja molekularna, dyfuzja**

Knudsena, dyfuzja powierzchniowa, kondensacja kapilarna, oddziaływania między dyfundującymi molekułami oraz wykluczanie molekuł, dzięki którym membrany mikroporowate osiągają wysoką selektywność. Ogólny schemat działania membrany porowatej przedstawiono na rysunku 32.



Rysunek 32. Zasada działania membrany porowatej

Rozdział na membranie porowatej składa się z trzech etapów:

- **wędrówka adsorbentu do zewnętrznej powierzchni adsorbentu**, polegający na dyfuzji cząstek gazu w fazie gazowej – **dyfuzja zewnętrzna**,
- **dyfuzja adsorbentu w porach w kierunku powierzchni wewnętrznej porów – dyfuzja wewnętrzna** (prędkość dyfuzji w porach zależy w dużej mierze od stosunku średniej średnicy porów(r) do średniej drogi swobodnej cząsteczek adsorbentu(λ) i również decyduje o szybkości całego procesu; gdy $r \gg \lambda$, to transport wewnątrz porów w fazie gazowej odbywa się w wyniku dyfuzji molekularnej, czyli swobodnych ruchów cząsteczek, gdy $\lambda \gg r$, szybkość dyfuzji zależy o ciężaru cząsteczkowego gazu i średnicy porów i nosi nazwę dyfuzji knudsenowskiej),
- **kondensacja cząsteczek adsorbentu na powierzchni porów – właściwy proces adsorpcji**.

Cząsteczki o odpowiednich rozmiarach, nieulegające adsorpcji dyfundują przez pory membrany w kierunku mniejszego stężenia.

Membrany porowate wykonuje się z polimerów organicznych, materiałów ceramicznych, metali, szkła kwarcowego i rzadziej z węgla. Nowe technologie produkcji membran pozwalają otrzymywać membrany w postaci cienkiej warstwy zeolitów, krzemionki, tlenku tytanu, węgla krzemu i węgla, naniesionej na nieorganiczne membrany makro- i mezoporowate. Membrany mogą mieć kształt płaskiej folii, kapilary lub wydrążonego, porowatego włókna kapilarnego.

Ekstrakcja metodą adsorpcji na membranach porowatych umożliwia usuwanie z gazu wielu substancji jednocześnie, szczególnie organicznych oraz oczyszczanie dużych strumieni gazów o małym stężeniu zanieczyszczeń.

7.3. Ekstrakcja

Szeroko stosowaną metodą wzbogacania analitów jest **klasyczna ekstrakcja** oraz jej współczesne modyfikacje.

Klasyczna ekstrakcja jest sposobem wyodrębniania poszczególnych substancji lub grup związków chemicznych poprzez rozpuszczanie ich w rozpuszczalniku i oddzielenie ich w postaci roztworu od pozostałych składników próbki.

W przypadku próbek ciekłych ekstrakcja jest przenoszeniem wybranych składników z roztworu próbki (**ciekłej matrycy pierwotnej**) do roztworu w innej cieczy (**matrycy wtórnej** zwanej też **matrycą odbierającą**). Gdy próbka jest ciałem stałym, ekstrakcja polega na rozpuszczeniu wybranych składników w cieczy i oddzieleniu roztworu od pozostałych, nierozpuszczalnych składników matrycy pierwotnej. **We współczesnych technikach ekstrakcji, jako matrycę odbierającą stosuje się również gaz, płyn w stanie nadkrytycznym lub ciało stałe.**

Jednym z kryteriów podziału technik ekstrakcyjnych jest stan skupienia próbki i stan skupienia medium ekstrahującego (ekstrahenta). Nazywając technikę ekstrakcji przyjmuje się stałą kolejność wymieniania faz. **W pierwszej kolejności wymienia się stan skupienia fazy zawierającej substancję przed ekstrakcją, czyli stan skupienia próbki natomiast stan skupienia fazy zawierającej substancję po ekstrakcji (ekstrahenta), jako drugą.**

Wybór techniki zależy od właściwości fizyko-chemicznych substancji ekstrahowanych i matrycy oraz celu ekstrakcji. Właściwością analitu o podstawowym znaczeniu jest jego rozpuszczalność w ekstrahencie.

Poza tym, należy brać pod uwagę postać fizyczną analitu, jego lotność, zdolność do sublimacji, odporność termiczną, odporność na promieniowanie UV czy zdolność do sorpcji na powierzchni. Parametry wybranej techniki ekstrakcji, takie jak: temperatura, rodzaj i moc oddziaływań fizycznych (ciśnienia, ultradźwięków czy promieniowania mikrofalowego), intensywności mieszania, itp. uwarunkowane są właściwościami analitu i matrycy.

Wybór techniki ekstrakcji zależy też od jej celu: wyodrębnienia pojedynczej substancji lub określonej grupy związków chemicznych, wyodrębnienia na skalę preparatywną lub analityczną, identyfikacji składników ekstraktu lub/i oznaczenia ilościowego jego składu. Sposób ekstrakcji zależy również od poziomu stężeń analitu w matrycy i musi być dostosowany do wymogów techniki analizy końcowej.

Do oceny ilościowej procesu ekstrakcji służy wielkość nazwana **procentem ekstrakcji (%E)**. Jest to stosunek masy substancji ekstrahowanej, znajdującej się w matrycy odbierającej po ekstrakcji ($A)_\beta$ do masy substancji ekstrahowanej, znajdującej się w matrycy pierwotnej przed ekstrakcją ($A)_\alpha$:

$$\%E = (A)_\beta / (A)_\alpha 100\% \quad (22)$$

Jeśli substancja ekstrahowana nie znajduje się w takiej samej postaci w obu matrycach (bo ulega np. dysocjacji, hydratacji lub hydrolizie) należy uwzględnić wszystkie formy substancji A, występujące w matrycy odbierającej $[\Sigma(A)_\beta]$ oraz wszystkie formy substancji A, występujące w matrycy pierwotnej $[\Sigma(A)_\alpha]$:

$$\%E = \sum (A)_\beta / \sum (A)_\alpha 100\% \quad (23)$$

7.3.1. Ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz

Proces przenoszenia substancji rozpuszczonej w jednej fazie ciekłej do drugiej fazy ciekłej, niemieszającej się z pierwszą, nazywa się **ekstrakcją w układzie ciecz – ciecz** (ang. *liquid – liquid extraction*, LLE).

Zależność stężenia substancji w jednej fazie, matrycy pierwotnej (c_α) od jej stężenia w drugiej fazie, matrycy odbierającej (c_β), w stanie równowagi i w stałej temperaturze i ciśnieniu jest stała, co ilościowo opisuje **prawo podziału Nernsta**:

$$c_\beta / c_\alpha = K = const. \quad (24)$$

Wielość K nazywa się stałą podziału a jej wartość jest charakterystyczna dla danej substancji i układu faz.

Jeśli substancja podczas ekstrakcji zmienia postać, bo ulega np. dysocjacji, hydratacji lub hydrolizie, zależność stężenia substancji w jednej fazie od jej stężenia w drugiej fazie wyraża **współczynnik ekstrakcji - D** , uwzględniający stężenia wszystkich form substancji występujących w matrycy odbierającej $[\Sigma(A)_\beta]$ i w matrycy pierwotnej $[\Sigma(A)_\alpha]$:

$$D = \sum (A)_\beta / \sum (A)_\alpha \quad (25)$$

Znajomość wartości stałej podziału K czy współczynnika ekstrakcji D substancji izolowanej lub jej homologu, umożliwia ustalenie warunków ekstrakcji, jak objętość fazy ekstrahującej oraz krotność ekstrakcji, zapewniających odpowiednią wydajność procesu.

Dla wartości $K \gg 1$ wystarczającą jest jednostopniowa ekstrakcja, wielostopniową ekstrakcję należy stosować, jeśli wartość K jest znacznie mniejsza, gdy K jest równe jedności – rozdział jest niemożliwy.

Zależność między wydajnością ekstrakcji a współczynnikiem ekstrakcji przedstawia równanie:

$$\%E = D \frac{v_\beta}{v_\alpha} 100 \quad (26)$$

gdzie:

v_β, v_α – objętości odpowiednio matrycy odbierającej i matrycy pierwotnej.

Z równania wynika, że wydajność ekstrakcji jest tym większa, im większa jest wartość współczynnika podziału D i większa objętość matrycy odbierającej (v_B). Zwiększenie objętości matrycy odbierającej powoduje rozcieńczenie analitu, co „kłóci się” z podstawowym celem ekstrakcji, jakim jest zateżenie, dlatego aby osiągnąć pożądaną wydajność, należy stosować kilkakrotną ekstrakcję mniejszymi porcjami rozpuszczalnika. Wartość współczynnika ekstrakcji substancji między dwie niemieszające się ciecze można oszacować na podstawie jej rozpuszczalności w tych cieczach.

Ekstrakcja ciecz – ciecz jest procesem dwufazowym, w którym dla przyspieszenia osiągnięcia stanu równowagi wymagane jest rozwinięcie powierzchni zetknięcia faz. Po osiągnięciu stanu równowagi, fazy (warstwy cieczy) należy rozdzielić w możliwie krótkim czasie. **Szybkie rozdzielanie się warstw ułatwia zastosowanie właściwego rozpuszczalnika do ekstrakcji, który poza zdolnością rozpuszczania analitu, ma odpowiednią gęstość, lepkość i napięcie powierzchniowe. Inne właściwości odpowiednio dobranego rozpuszczalnika to: bardzo słaba rozpuszczalność w matrycy pierwotnej, odpowiednia lotność, umożliwiającą łatwe odparowanie z ekstraktu bez strat analitów oraz duża czystość.** Rozpuszczając się w matrycy pierwotnej, ekstrahent zwiększa w niej rozpuszczalność substancji wyodrębnianej, przez co zmniejsza się wartość stałej podziału i wydajność ekstrakcji. **Nawet w niewielkim stopniu zanieczyszczony rozpuszczalnik, po zateżeniu może być istotnym źródłem zanieczyszczenia analitu.** Minimalna obecność substancji zanieczyszczającej w rozpuszczalniku (a istnieje niewiele substancji nierozpuszczalnych w rozpuszczalnikach organicznych na poziomie ppb) powoduje po jego zateżeniu (np. stukrotnym) pojawienie się sygnału mogącego zdecydowanie zmienić interpretację wyników oznaczeń.

Ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz może być stosowana w temperaturze pokojowej lub niższej, dlatego nadaje się do izolacji substancji nietrwałych. Ze względu na konieczność i sposób usuwania rozpuszczalnika (odparowanie), ekstrakcję w układzie ciecz – ciecz można stosować do izolacji średnio- i trudnołotnych substancji.

Ekstrakcja w układzie ciecz – ciecz jest najstarszym typem ekstrakcji i nadal jest stosowana, zwłaszcza do wyodrębniania związków organicznych z próbek wodnych. Związki organiczne hydrofobowe, których cząsteczki zbudowane są głównie z łańcuchów czy pierścieni węglowodorowych (nasyconych, nienasyconych, aromatycznych) rozpuszczają się lepiej w rozpuszczalnikach o małej stałej dielektrycznej (niepolarnych). Związki organiczne hydrofilowe, zawierające w swej budowie polarne grupy, jak: grupy hydroksylowe, aminowe, karboksylowe - lepiej rozpuszczają się w rozpuszczalnikach o dużej stałej dielektrycznej (polarnych). **W skrócie podstawę doboru rozpuszczalnika do ekstrakcji określa zasada „podobne rozpuszcza podobne”.** Jeśli nie ma przesłanek, jakiego rozpuszczalnika należy użyć do ekstrakcji, wyboru dokonuje się doświadczalnie. W tabeli 13 podano właściwości fizyczne niektórych, często stosowanych do ekstrakcji, rozpuszczalników. Do ekstrakcji stosuje się również mieszaniny rozpuszczalników, których właściwości ekstrakcyjne mogą być lepsze niż dla każdego rozpuszczalnika oddzielnie.

W przypadku bardzo złożonych próbek stosuje się **ekstrakcję sekwencyjną**, polegającą na traktowaniu kolejno, tej samej próbki rozpuszczalnikami o coraz większej polarności.

Można uzyskać wtedy różne frakcje ekstraktu, z których każda będzie wzbogacona w inny analit lub grupę analitów.

Tabela 13. Właściwości fizyczne wybranych rozpuszczalników organicznych

Rozpuszczalnik	Gęstość [g mL ⁻¹]	Temperatura wrzenia[°C]	Względna przenikalność dielektryczna	Rozpuszczalność w wodzie [%]
Aceton	0,891	56,5	20,7	nieograniczona
Alkohol n-pentylowy	0,814	138,1	13,8	2,2
Alkohol n-butylowy	0,813	117,7	17,1	7,9
Alkohol etylowy	0,789	78,3	24,3	nieograniczona
Alkohol metylowy	0,796	64,7	32,6	nieograniczona
Chloroform	1,498	61,3	4,8	1
Cykloheksan	0,783	80,7	2,0	0,01
Dichlorometan	1,326	40,2	8,93	1,6
Dioksan	1,034	101,3	2,2	nieograniczona
Disiarczek węgla	1,263	46,3	2,6	0,22
Eter dietylowy	0,719	34,5	4,3	7,4
Eter diizopropylowy	0,728	67,2	3,9	0,7
Heksan	0,660	69,0	1,9	0,02
Nitrobenzen	1,198	211	34,8	
Octan etylu	0,901	77,2	6,0	8,6
Pirydyna	0,988	115,3	12,3	nieograniczona
Toluen	0,866	110,8	2,4	0,05
Trichloroetylen	1,456	87	3,4	0,1

Gęstość rozpuszczalnika ma duże znaczenie na etapie rozwarstwiania cieczy, im większa różnica w gęstości między rozpuszczalnikiem a próbką, tym szybsze i dokładniejsze rozdzielanie warstw.

Stosując wielostopniową ekstrakcję w rozdzielaczu, korzystnie jest używać rozpuszczalnika o większej gęstości niż próbka, ekstrakt będzie tworzył dolną warstwę, którą można bezpośrednio przelać do zbiornika ekstraktu.

Gdy do ekstrakcji używany jest rozpuszczalnik o mniejszej gęstości niż próbka, można dodać do niego innego, takiego by ich mieszanina była cięższa od próbki, co bardzo ułatwia wykonywanie czynności przy wielostopniowej ekstrakcji.

Jeśli próbka jest roztworem wodnym, dla ułatwienia ekstrakcji można zastosować dodatek soli, np. chlorku sodu, chlorku wapnia. **Zwiększenie siły jonowej roztworu zmniejszy rozpuszczalność w nim związku organicznego i ułatwi jego ekstrakcję.** Proces taki nazywa się **wysalaniem**. Wysalanie jest również korzystne w przypadku stosowania rozpuszczalnika częściowo mieszającego się z wodą, gdyż zmniejsza jego rozpuszczalność w wodzie. Dla związków organicznych bardzo lotnych wzrost ilości soli w próbce zwykle zwiększa wydajność ekstrakcji do rozpuszczalnika organicznego, mniej lotne substancje mogą wykazywać optimum wydajności ekstrakcji przy określonej zawartości soli w próbce. **Ilość dodawanej soli do próbki należy wyznaczyć eksperymentalnie.**

Rozpuszczalniki, które mają niską temperaturę wrzenia są korzystne na etapie usuwania ich z ekstraktu, ale nie w trakcie ekstrakcji. **Lotne rozpuszczalniki łatwo przechodzą w stan pary, wdychane lub w kontakcie ze skórą stanowią zagrożenie dla zdrowia człowieka. Palne rozpuszczalniki stwarzają niebezpieczeństwo zapłonu.**

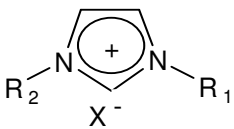
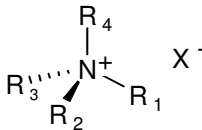
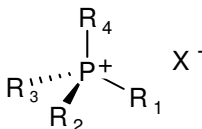
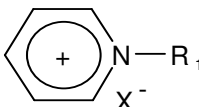
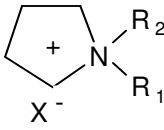
Rozpuszczalnikami organicznymi można też ekstrahować niektóre elektrolity organiczne. Ekstrakcję umożliwia właściwy dobór pH próbki, ten sposób wykorzystuje się np. do izolacji lub oczyszczania alkaloidów za pomocą chloroformu.

7.3.1.1. Ekstrakcja cieczami jonowymi

Na szczególnie zainteresowanie zasługuje zastosowanie w ekstrakcji **cieczy jonowych**. Wg ogólnie przyjętej definicji i w znaczeniu laboratoryjnym ciecze jonowe są **solami organicznymi o temperaturach topnienia poniżej 100°C i stabilnymi na powietrzu w szerokim zakresie temperatur**. Jako rozpuszczalniki stosowane są te, które **w temperaturze pokojowej są ciekłe** (ang. *room temperature ionic liquids*, RTIL). W odróżnieniu od konwencjonalnych rozpuszczalników, RTIL nie są lotne, nie rozpuszczają się w próbce wodnej i są trwałe. Są to nowe rozpuszczalniki o dobrych właściwościach rozpuszczających dla szerokiego zakresu substancji i korzystnych właściwościach fizycznych, umożliwiających zastosowanie do ekstrakcji. Znanych jest ponad dwieście RTIL a liczba dostępnych komercyjnie wzrasta. Głównymi typami ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy są sole zawierające w swej strukturze kationy, takie jak: alkiloimidazoliowe, alkiloamoniowe, alkilofosfoniowych, alkilopirydyniowe oraz alkilopirolidyniowe. Z kolei najczęściej stosowane aniony to słabe nukleofile takie jak: bis(trifluorometylosulfonylo)imidowy, heksafluorofosforowy, tetrafluoroboranowy, perfluoroalkilosulfonianowy i in. Strukturę chemiczną często stosowanych, ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych przedstawiono w tabeli 14.

Wszystkie ciecze jonowe są dipolarne/polaryzowalne i posiadają właściwości tworzenia wiązań wodorowych, co powoduje ich dobre właściwości solwatacyjne i dobrą rozpuszczalność szerokiego zakresu związków organicznych i nieorganicznych a także różnych biomolekuł, w tym enzymów i biopolimerów, takich jak np. celuloza.

Tabela 14. Typowe ciecze jonowe

Kation	Struktura	Aniony (X^-) Podstawniki (R_x)
Alkiloimidazoliowy		X^- : BF_4^- , PF_6^- , $AlCl_4^-$, SbF_6^- , $CF_3SO_3^-$, $(CF_3SO_2)_2N^-$ i in. R_x : od $-CH_3$ do $-C_9H_{19}$
Alkiloamoniowy		
Alkilfosfoniowy		
Alkilpirydyniowy		
Alkilpirolidyniowy		

Poprzez odpowiedni dobór kationu i anionu cieczy jonowej można z powodzeniem manipulować takimi cechami fizykochemicznymi, jak: lepkość, gęstość, rozpuszczalność w odpowiednich rozpuszczalnikach i in. Większość z dostępnych współcześnie cieczy jonowych może całkowicie lub częściowo mieszać się z polarnymi rozpuszczalnikami organicznymi (np. metanolem, acetonitrem, tetrahydrofuranem, dichlorometanem, acetonem i in.). Ciecze mogą też tworzyć wydajne dwufazowe układy z wodą lub z organicznymi rozpuszczalnikami o niskiej polarności, jak np.: z heksanem, toluenem czy eterami alkilowymi.

Rozpuszczalność w wodzie zależy bardziej od rodzaju anionu niż kationu, np. sole alkiloimidazoliowe z anionami halogenkowymi całkowicie mieszają się z wodą, natomiast sole z anionami heksafluorofosforanowymi nie mieszają się z wodą. Rozpuszczalność cieczy jonowych jest też zależna od długości łańcucha alkilowego w strukturze kationu.

Temperatury parowania cieczy jonowych są wysokie, gdyż przed przejściem do fazy gazowej chronią, działające na znaczne odległości, oddziaływania kulombowskie. Niska prężność par cieczy jonowych występuje w szerokim zakresie temperatur. Ciecze jonowe ze słabozasadowymi anionami wykazują wyjątkową termiczną stabilność w obojętnej atmosferze, pozwalającą na stosowanie w temperaturze powyżej 250°C (np. w chromatografii gazowej). Gęstość cieczy

jonowych RTIL jest przeważnie większa od gęstości wody (dla najczęściej stosowanych wynosi od 0,964 do 1,470 g/mL, w 25°C) i zwykle zmniejsza się wraz ze wzrostem rozmiaru jonów. Natomiast z rozmiarem anionu związana jest lepkość cieczy jonowych, małe aniony obniżają lepkość. Najczęściej ciekłe w temperaturze pokojowej ciecze jonowe mają relatywnie niską lepkość, **relatywnie** należy podkreślić, bo większość z nich ma lepkość powyżej 30 cP (lepkość wody w temp. 25°C wynosi 0,8937 cP). Większość cieczy jonowych jest trudnopalna, a temperatury zapłonu palnych cieczy jonowych są przynajmniej o 100°C wyższe niż temperatury zapłonu konwencjonalnych rozpuszczalników organicznych. Gęstość ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych, które tworzą układy dwufazowe z wodą lub rozpuszczalnikami organicznymi, umożliwia szybkie rozdzielanie faz, co jest korzystne w przypadku ich stosowania w metodach ekstrakcyjnych.

W większości zastosowań ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych w technikach separacyjnych, jako szczególnie pożądane wyróżnia się dwie główne właściwości przemawiające na korzyść w odróżnieniu od konwencjonalnych rozpuszczalników. Są to: wysoka termiczna trwałość i pomijalna prężność par w szerokim zakresie temperatur.

Pomijalna prężność par minimalizuje zanieczyszczenie środowiska naturalnego poprzez odparowanie, co jest głównym problemem w przypadku stosowania konwencjonalnych rozpuszczalników organicznych oraz pozwala na stosowanie układów próżniowych bez istotnych strat.

Ciekłe w temperaturze pokojowej ciecze jonowe znalazły zastosowanie przede wszystkim do ekstrakcji próbek wodnych, do izolacji zarówno związków organicznych jak i nieorganicznych. Ekstrakty analitów w cieczy jonowej można bezpośrednio analizować techniką chromatografii cieczowej w układzie odwróconych faz (fazą ruchomą są roztwory wodne). Natomiast przy stosowaniu chromatografii gazowej, konieczna jest zamiana matrycy na lotną (ciecze jonowe mogą kumulować się w dozowniku i na kolumnie chromatograficznej, obniżając sprawność rozdzielania). Odzyskiwanie ekstrahowanych substancji z roztworu cieczy jonowej można przeprowadzić przez destylację, sublimację lub ekstrakcję rozpuszczalnikiem organicznym (ewentualnie po derywatywacji). Przykłady zastosowania ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych w ekstrakcji związków organicznych i nieorganicznych przedstawiono w tabeli 15.

Cieczami jonowymi można ekstrahować związki występujące w formie obojętnej lub jonowej. Jeśli związek jest w formie jonowej, np. fenol - jako anion fenolanowy, ekstrakcja zachodzi wg mechanizmu wymiany jonowej, tzn. taka sama ilość anionów cieczy jonowej musi przejść do fazy wodnej, ile anionów fenolanowych przechodzi do cieczy jonowej. Fenole mogą być ekstrahowane w formie obojętnej i formie anionowej, a wydajność ekstrakcji zależy od rodzaju cieczy jonowej. Wydajność ekstrakcji fenoli z wody za pomocą RTIL była 10 razy większa niż dla dichlorometanu.

Tabela 15. Przykłady zastosowania ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych (RTIL), jako cieczy ekstrahujących

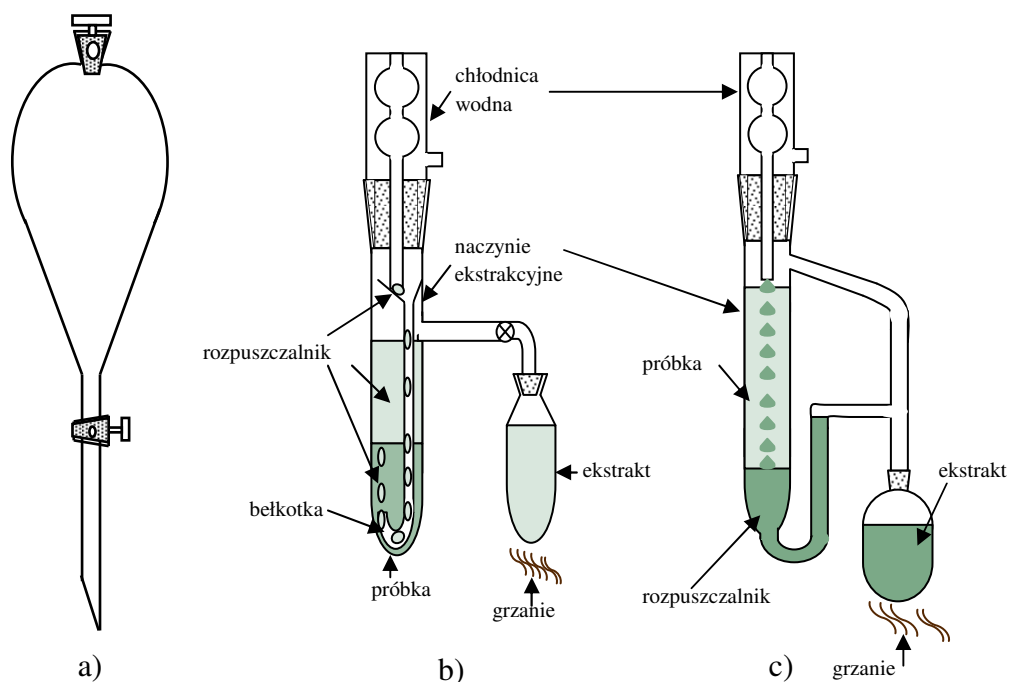
Analityt	Próbka	Ciekła w temperaturze pokojowej ciecz jonowa (RTIL)	Stała podziału
Benzenowe lub naftalenowe pochodne z pojedynczą grupą fenolową	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	1 ÷ 97
Fenol, tyrozol, kwas p-hydroksybezoesowy, bisfenol A, pentachlorofenol, 4-oktylofenol, 4-nonylofenol	Woda	1-alkilo-3-metyloimidazoliowy tetrafluoroboran	Porównywalna z n-oktanol/woda
Benzen	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	Porównywalna z n-oktanol/woda
Białka	Komórki drożdży	3-(dimetyloamino)-1-propyloamoniowy mrówczan	-
Hemoglobina	Krew ludzka	1-butylo-3-trimetylosililoimidazoliowy heksafluorofosforan	-
Ksylene	Heksan	1-etylo-3-metylopirydyniowy etylosulfonian	-
Jony metali ciężkich w postaci kompleksu z ditizonem	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	-
Jony rtęci (bez kompleksowania)	Woda	1-alkilo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	-
Toluen, cykloheksanon, nonanol-1, kwas octowy, kwas heksanowy	Woda	Różne RTIL	Wyższa niż n-oktanol/woda
Kwasy naftalenosulfonowe (barwniki azowe)	Woda	N-butylo-N-etylopirolidyniowy bis(trifluorometylosulfonylo)imid	ok. 2 (2 lub 3 ekstrakcje dawały 95 % wydajności)
Amoxicilina, ampicylina (antybiotyki)	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan, 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan i tetrafluoroboran, 1-oktylo-3-metyloimidazoliowy tetrafluoroboran	3 ÷ 20
Tryptofan, leucyna, alanina, glicyna	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan, 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan i tetrafluoroboran, 1-oktylo-3-metyloimidazoliowy tetrafluoroboran	Wysoka, wyższa dla tetrafluoroboranów niż dla heksafluorofosforanów, wyższa dla aromatycznych aminokwasów niż alifatycznych

Podjęmowano również próby zastosowania niskotemperaturowych cieczy jonowych w ekstrakcji techniką dwufazowych roztworów wodnych. Wykorzystano mieszaninę trójskładnikową, tworzącą dwie fazy ciekłe, składającą się z cieczy jonowej, soli nieorganicznej i wody. Najkorzystniejsze cechy do zastosowania w technice dwufazowych układów wodnych miały sole kationów 1,3-dialkylimidazoliowych (zdolność ich do tworzenia dwóch faz jest w przybliżeniu odwrotnie proporcjonalna do rozpuszczalności w wodzie) wraz z solami nieorganicznymi, takimi jak: fosforany(V), siarczany(VI), węglany lub cytryniany amoniowe, potasowe lub sodowe. Uzyskane w ten sposób ekstrakty (faza wodna wzbogacona w ciecz jonową) można bezpośrednio analizować metodą chromatografii cieczowej.

7.3.2. Techniki ekstrakcji w układzie ciecz-ciecz

Najprostszym sposobem ekstrakcji ciecz – ciecz jest **ekstrakcja w rozdzielaczu zwana periodyczną**. Próbkę ciekłą umieszcza się w rozdzielaczu, dodaje rozpuszczalnika ekstrahującego i wytrząsa ręcznie lub mechanicznie. Rozdzielacze muszą mieć szczelne zamknięcia (**szlifów nie można smarować smarami, ponieważ rozpuszczają się w większości rozpuszczalników**). Po wytrząsaniu zawartość pozostawia się do rozdzielania warstw. Rozdzielacze w kształcie gruszki (rysunek 33a) ułatwiają rozdzielanie warstw. Ekstrakcję powtarza się wielokrotnie a połączone ekstrakty przemywa czystą cieczą, w której była rozpuszczona próbka. W przypadku próbek wodnych, ekstrakty przemywa się wodą lub roztworem wodnym zawierającym odczynniki, jeśli były one dodane do próbki przed ekstrakcją. Odmyty z domieszek ekstrakt należy wysuszyć środkiem suszącym, np. bezwodnym siarczanem(VI) sodu i odparować.

Nie zawsze można dobrać rozpuszczalnik, dla którego współczynnik podziału ekstrahowanej substancji będzie miał dużą wartość. W takich przypadkach, by ograniczyć ilości zużywanego do ekstrakcji rozpuszczalnika, stosuje się **ekstrakcję ciągłą**. Budowa aparatów do ekstrakcji ciągłej ciecz – ciecz próbek wodnych zależy od tego, czy rozpuszczalnik jest lżejszy czy cięższy od wody. Budowę ich przedstawiono na rysunkach 33b i 33c.



Rysunek 33. Rozdzielacz gruszkowy (a) i zestawy do ekstrakcji ciągłej (b i c)

Ekstrakcja prowadzona jest ciągle świeżą porcją rozpuszczalnika. Na rysunku 33b przedstawiono schemat ekstrakcji rozpuszczalnikiem lżejszym od wody. Rozpuszczalnik spływa z chłodnicy rurką na dno i przez bełkotkę zatopioną na końcu rurki przenosi się w postaci drobnych kropelek przez próbkę, ekstrahując ją. Bełkotka umożliwia rozwinięcie powierzchni styku faz i zwiększenie wydajności ekstrakcji. Ekstrakt zbiera się nad wodą, następnie przelewa rurką boczną do odbieralnika ogrzewanego, skąd rozpuszczalnik odparowuje i skrapla się w chłodnicy a w odbieralniku zagęszcza się ekstrakt. Na rysunku 33c przedstawiono schemat ekstrakcji rozpuszczalnikiem cięższym od wody. Skroplony w chłodnicy rozpuszczalnik przepływa kroplami przez próbkę, rozpuszczając analit i gromadzi się pod próbką. Po przelaniu do zbiornika następuje odparowanie rozpuszczalnika i zatężanie ekstraktu.

Do rozdziału mieszaniny substancji o zbliżonych wartościach współczynników podziału stosuje się **ekstrakcję przeciwprądową**, którą przeprowadza się w specjalnych aparatach, np. aparacie Craiga. Aparat taki składa się z wielu elementów (np. 120). Do jednego lub kilku elementów wprowadza się próbkę, pozostałe napełnia fazą ekstrahującą. Na ekstrakcję składa się kilka etapów:

- **wytrząsanie** (wszystkie elementy poruszają się i w elementach z próbką następuje wymieszanie faz),
- **stan spoczynku**, w którym następuje rozdzielanie się warstw,
- **etap przenoszenia fazy**; aparat jest tak zbudowany, że umożliwia przelewanie się fazy górnej do kolejnego elementu (daje to efekt „poruszania się faz w przeciwprądzie”),
- **etapy jednostkowe przeprowadzane są wielokrotnie.**

Czas mieszania i odstawiania oraz ilość pojedynczych procesów ustala się doświadczalnie w zależności od składu próbki i właściwości ekstrahenta. Ekstrakcja przeciwprądowa umożliwia rozdział skomplikowanych mieszanin (nawet, gdy różnice w zawartości poszczególnych składników są duże), wydzielanie składników w bardzo czystym stanie i określanie ich stosunku ilościowego w mieszaninie. Ekstrakcja przeciwprądowa stosowana jest do celów analitycznych i preparatywnych.

7.3.3. Techniki mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz

W oznaczaniu śladowych zanieczyszczeń środowiska szczególną zaletą stosowanych technik jest małe zużycie rozpuszczalników. Małym zużyciem rozpuszczalników charakteryzują się techniki mikroekstrakcji w układzie ciecz - ciecz (ang. *liquid-liquid microextraction*, LLME). Stosowanie niewielkich ilości rozpuszczalników jest korzystne dla środowiska naturalnego i zdrowia, ogranicza też zdecydowanie liczbę operacji wykonywanych podczas ekstrakcji, zmniejszając tym samym ryzyko kontaminacji próbek.

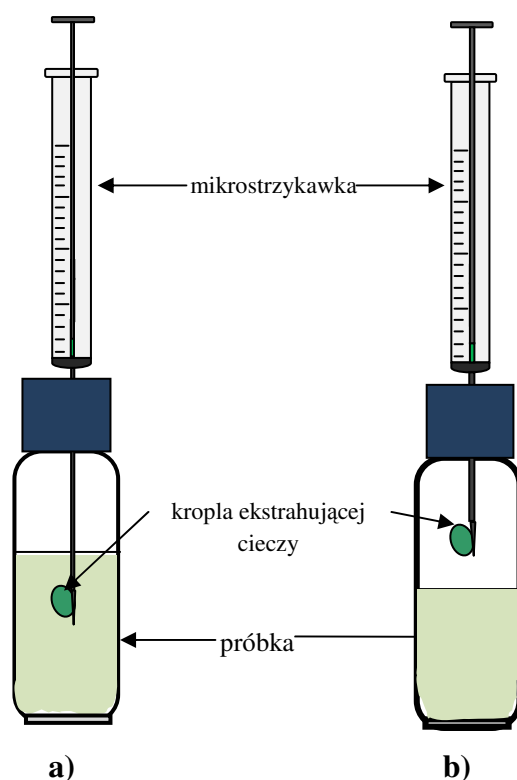
7.3.3.1. Wstrzykowa analiza przepływowa

Mikroekstrakcja do rozpuszczalnika (ang. *microscale solvent extraction*, MSE) została zastosowana we wstrzykowej analizie przepływowej. Metoda ta polega na wstrzykiwaniu płynnej próbki do strumienia cieczy nośnej, przepływającej przez rurkę o małej, stałej średnicy, w której znajduje się odczynnik reagujący z analitem. Jeśli do strumienia cieczy nośnej, w miejscu, w którym próbka jest już spochodniona (do tzw. spirali ekstrakcyjnej) doprowadzi się rozpuszczalnik, całość wymiesza się i nastąpi ekstrakcja analitu do fazy organicznej. Mieszanina wpływa następnie do separatora grawitacyjnego lub membranowego, gdzie faza organiczna jest oddzielona i kierowana do detektora.

W metodzie tej zużycie rozpuszczalników jest zdecydowanie mniejsze w porównaniu do ilości zużywanych w metodach tradycyjnych (np. 1 mL na 1L próbki), poza tym ekstrakcja zachodzi w układzie zamkniętym i rozpuszczalnik nie odparowuje do atmosfery.

7.3.3.2. Mikroekstrakcja do kropli

Mikroekstrakcja do kropli (ang. *single-drop microextraction*, SDME) jest kolejną techniką zmniejszającą w sposób radykalny zużycie rozpuszczalników. Ekstrakcja następuje przez rozpuszczanie się składników próbki w kropli cieczy zawieszonej na końcu igły strzykawki i zanurzonej w próbce. **Warunkiem przeprowadzenia ekstrakcji jest większa rozpuszczalność analitu w rozpuszczalniku ekstrahującym niż w próbce.** Metodę SDME można stosować do próbek ciekłych i gazowych. W przypadku próbek ciekłych rozpuszczalnik ekstrahujący nie może mieszać się z próbką lub mieszać się w bardzo ograniczonym stosunku. Zestawy do mikroekstrakcji do kropli z próbek ciekłych pokazano na rysunku 34. Jeśli kropla rozpuszczalnika jest bezpośrednio zanurzona w próbce (ang. *direct immersion single drop microextraction*, DI-SDME), ekstrakcja następuje przez podział analitu między dwie fazy ciekłe (rysunek 34a). W drugim przypadku (rysunek 34b) występuje układ trójfazowy, gdzie analit ulega podziałowi między próbkę a fazę gazową nad próbką oraz między fazę gazową a ciekłą fazę organiczną, którą jest kropla. Oznacza to, że lotne anality z próbki ciekłej, znajdujące się w fazie gazowej rozpuszczają się w kropli rozpuszczalnika umieszczonej nad powierzchnią próbki (ang. *headspace single drop microextraction*, HS-SDME).



Rysunek 34. Mikroekstrakcja do kropli, a – kropla zanurzona bezpośrednio w próbce (DI-SDME), b – kropla w fazie gazowej nad powierzchnią próbki (HS-SDME)

Po odpowiednim czasie ekstrakcji, kropla rozpuszczalnika ekstrahującego „wciągana” jest do strzykawki i przenoszona np. do dozownika chromatografu. Do ekstrakcji można stosować

pojedynczy rozpuszczalnik lub mieszaninę, dla uzyskania większej selektywności. Do ekstrakcji jonów metali stosuje się odczynniki chelatujące rozpuszczone w organicznym rozpuszczalniku. Przy wyborze rozpuszczalnika do ekstrakcji należy również uwzględnić rodzaj techniki stosowanej do oznaczania analitu. W przypadku stosowania chromatografii gazowej w końcowym oznaczeniu, rozpuszczalnik do ekstrakcji musi być tak dobrany, by jego sygnał chromatograficzny nie nakładał się na sygnał analitu. Wydajność ekstrakcji zależy głównie od wartości stałej podziału K analitu między próbką a ekstrahentem oraz od warunków ekstrakcji, takich jak: czas ekstrakcji, intensywność mieszania próbki, wielkość kropli oraz pH próbki, zwłaszcza, gdy ekstrahentem jest odczynnik chelatujący. Optymalne warunki ekstrakcji należy dobrać eksperymentalnie dla każdego oznaczenia.

W ekstrakcji do kropli w wersji dynamicznej, ekstrahentem jest niewielki słup cieczy znajdujący się w czasie ekstrakcji przez cały czas w mikrostrzykawce. Próbkę wprowadza się do mikrostrzykawki i pozostawia na kilka sekund, w tym czasie anality z próbki rozpuszczają się w słupie rozpuszczalnika i jego warstwie przylegającej do wewnętrznej ściany korpusu strzykawki. Taką operację powtarza się wielokrotnie, uzyskując kontakt ekstrahenta z kolejnymi, świeżymi porcjami próbki. Wzbogacony w analit rozpuszczalnik ze strzykawki wykorzystuje się bezpośrednio do oznaczenia stosowaną techniką analityczną.

Przykłady zastosowania SDME podano w tabeli 16. Najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami do ekstrakcji próbek wodnych są węglowodory, oktanol, alkohol benzylowy. Zastosowanie do ekstrakcji znalazły również ciecze jonowe, np. do ekstrakcji podstawionych fenoli wykorzystano krople 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego heksafluorofosforanu. Do wydzielania jonów ołowiu z próbek biologicznych (włosów ludzkich, liści herbaty, mąki ryżowej) zastosowano odczynnik chelatujący - 1-fenyl-3-metylo-4-benzoilo-5-pirazolon (PMBP), rozpuszczony w benzenie, następnie kroplę z chelatem ołowiu umieszczano w kuwecie grafitowej i oznaczano metodą elektrotermicznej atomowej spektroskopii absorpcyjnej (ET-ASA). Jony metali można ekstrahować rozpuszczalnikami organicznymi z roztworów wodnych, stosując odczynniki kompleksujące. Kompleksowanie z *O,O*-dietyloditiofosforanem oraz technikę SDME, z zastosowaniem chloroformu, wykorzystano do oznaczania jonów ołowiu metodą ET-ASA.

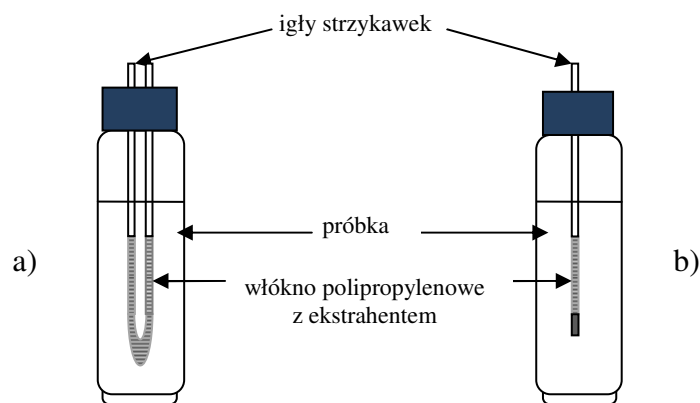
Przeprowadzanie analitu w odpowiednią do analizy końcowej pochodną może się odbywać podczas jednej operacji równocześnie z ekstrakcją i zatężaniem, jeśli kropla rozpuszczalnika ekstrahującego będzie zawierać odpowiedni reagent. Ten sposób można wykorzystać w technice HS-SDME, w której kropla ekstrahenta umieszczona jest w fazie gazowej nad powierzchnią próbki.

Tabela 16. Niektóre przykłady zastosowania mikroekstrakcji do kropli

Analit	Próbka	Rozpuszczalnik ekstrahujący	Sposób ekstrakcji
Lotne związki organiczne	Woda	Heksan	DI-SDME
Chloroorganiczne pestycydy			
Chlorobenzeny	Woda	Izooktan	DI-SDME
Fosforoorganiczne pestycydy	Woda, soki owocowe	Toluen	DI-SDME
Fosforoorganiczne insektycydy	Woda	Toluen	DI-SDME
Herbicydy sulfonamidowe	Ekstrakty wodne z gleby	Octan etylu, dichlorometan	DI-SDME
BTEX	Woda	1-Oktanol, n-heksadekan	HS-SDME
Związki aktywne biologicznie	Ekstrakty wodne z roślin	1-Oktanol	HS-SDME
BTEX	Zużyty olej silnikowy	n-Heksadekan	HS-SDME
Związki terpenowe aktywne biologicznie	Olejki eteryczne	p-Ksilen	HS-SDME
Pozostałości rozpuszczalników	Olej roślinny	Alkohol benzylowy	HS-SDME

7.3.3.3. Mikroekstrakcja poprzez membranę do fazy ciekłej

Mikroekstrakcja do kropli obarczona jest ryzykiem jej zniszczenia. Ciecz ekstrahującą można unieruchomić w wydrążonym, porowatym włóknie (drenie), co zostało wykorzystane w mikroekstrakcji poprzez membranę do fazy ciekłej (ang. *hollow fibre liquid phase microextraction*, HF-LPME). Jest to ekstrakcja w układzie ciecz – ciecz, gdzie ciecz ekstrahująca znajduje się w przestrzeniach porowatego włókna zamocowanego na końcach igieł dwóch mikrostrzykawek (rysunek 35a) lub na końcu igły jednej mikrostrzykawki (rysunek 35b) i zanurzonego w roztworze próbki. Po skończonej ekstrakcji ekstrakt z drenu zasysany jest do strzykawki. Technika ta umożliwia dużą selektywność procesu poprzez duże możliwości doboru odpowiedniej cieczy ekstrahującej oraz rodzaju porowatego włókna. Duże zastosowanie w tej technice znalazł porowaty polipropylen. Poza zabezpieczeniem cieczy ekstrahującej, małe pory włókna uniemożliwiają przedostanie się do niej dużych molekuł, co jest pożądane zwłaszcza w analizie płynów biologicznych. Na wydajność ekstrakcji, podobnie jak w technice SDME, wpływ mają takie warunki ekstrakcji, jak: objętość próbki i ekstrahenta, intensywność mieszania, czas ekstrakcji, wysalanie oraz pH próbki. Technikę tę zastosowano do ekstrakcji z roztworów wodnych takich analitów, jak np.: aminy aromatyczne, leki o charakterze kwaśnym lub zasadowym oraz estrogeny.



Rysunek 35. Zestawy do mikroekstrakcji przez membranę do fazy ciekłej, HF-LPME

W mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz, takich jak ekstrakcja do pojedynczej kropli w fazie nadpowierzchniowej (HS-SDME) i ciekłej (DI-SDME), mikroekstrakcja poprzez membranę do fazy ciekłej (HF-LPME) znalazły też zastosowanie **ciecze jonowe ciekłe w temperaturze pokojowej** (RTIL). Stosowane w SDME ciecze jonowe dają większe i stabilniejsze krople, co umożliwia szybsze mieszanie próbki i dłuższy czas ekstrakcji. RTIL z kationem 1,3-dialkylimidazoliowym dają współczynnik wzbogacenia od 5 do 200 dla typowych niskomolekularnych substancji. Technika SDME czy HF-LPME przy użyciu cieczy jonowych ciekłych w temperaturze pokojowej może być bezpośrednio łączona z chromatografią cieczą w układzie odwróconych faz z wodnymi fazami ruchomymi. W przypadku analizy techniką chromatografii gazowej, wymagany jest dozownik z wyjmowaną wkładką, z której lotne składniki są odparowywane w temperaturze pokojowej, a usuwanie wkładki zapobiega kumulowaniu się cieczy jonowej w dozowniku i na kolumnie. Przykłady zastosowań cieczy jonowych w mikroekstrakcji przedstawiono w tabeli 17.

Tabela 17. Zastosowanie cieczy jonowych RTIL w technice mikroekstrakcji

Analit	Próbka	Ciecz jonowa	Technika ekstrakcji
BTEX, halometany, chlorobenzeny, chloroaniliny	Woda	1-oktylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	HS-SDME
Benzofenony	Mocz	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	DI-SDME
WWA, alkilofenole	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	DI-SDME
Chlorofenole alifatyczne, węglowodory aromatyczne	Woda	1-butylo-3-metyloimidazoliowy Heksafluorofosforan 1-oktylo-3-metyloimidazoliowy heksafluorofosforan	HF-LPME
Amfetamina, metamfetamina	Mocz	1-winylo-3-alkylimidazoliowa ciecz jonowa chemicznie związana z włóknem z krzemionki	SPE

7.3.4. Ekstrakcja w układzie ciało stałe-ciecz

Ekstrakcja w układzie ciało stałe – ciecz (ang. *solid liquid extraction, SLE*) jest podstawową metodą wyodrębniania z ciała stałego substancji rozpuszczalnych w wodzie lub rozpuszczalnikach organicznych. **Na wydajność i kinetykę ekstrakcji wpływają trzy, ściśle ze sobą związane, czynniki: rozpuszczalność, przenoszenie masy i wpływ matrycy, w przypadku próbki stałej szczególnie ważny jest transport masy (rozpuszczalnika i analitu) zależny od współczynników dyfuzji i struktury matrycy. Znając właściwości rozpuszczalnika i matrycy (w tym właściwości i stężenia substancji przeszkadzających) można wybrać technikę (i jej parametry) o odpowiedniej szybkości dyfuzji a tym samym wydajności i kinetyce ekstrakcji.** Próbki stałe to gleby, osady, zawiesiny, materiały pochodzenia roślinnego i zwierzęcego a także sorbenty stałe, na których wcześniej zaadsorbowano oznaczane substancje.

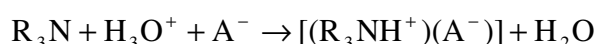
Próbki stałe wymagają wstępnego przygotowania przed ekstrakcją (np. rozdrobnienia) oraz usunięcia wody, która ogranicza dostęp do analitu, w przypadku ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym (*patrz własności rozpuszczalników, roz. 7.3.1. Ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz, tabela 13*).

7.3.4.1. Ekstrakcja odczynnikiem jonowo-asocjacyjnym

W analityce związków nieorganicznych, np. w oznaczaniu jonów metali duże zastosowanie ma **ekstrakcja odczynnikiem jonowo-asocjacyjnym**. W stężonych roztworach elektrolitów jony mają mniejszy dostęp do cząsteczek wody, warstwa hydratacyjna poszczególnego kationu zostaje zmniejszona, więc mogą pojawić się oddziaływania bezpośrednie między jonami. W wyniku połączenia się elektrostatycznego przeciwie naładowanych jonów tworzą się **asocjaty – pary lub tryplety jonów, zachowujące się jak pojedynczy jon**. Kompleksy jonowo-asocjacyjne powstają zwłaszcza wtedy, gdy przynajmniej jeden z jonów ma dużą masę. Na tworzenie się asocjatów ma wpływ użyty rozpuszczalnik organiczny, który częściowo rozpuszczając się w wodzie, ogranicza dostęp jonów do jej cząsteczek.

Ekstrakcję jonów metali w postaci kompleksów jonowo-asocjacyjnych dzieli się na kilka grup, ze względu na rodzaj stosowanego odczynnika kompleksującego. Jedną z grup związków tworzących asocjaty z jonami metali wielowartościowych są **halogenkowe kwasy: chlorowodorowy, bromowodorowy, jodowodorowy oraz kwas tiocyjanowodorowy**. Kompleks powstaje poprzez solwatację protonu cząsteczkami rozpuszczalnika. Schemat ekstrakcji jonów metalu trójwartościowego eterem dietylowym w obecności dużej ilości kwasu chlorowodorowego przedstawiono na rysunku 36.

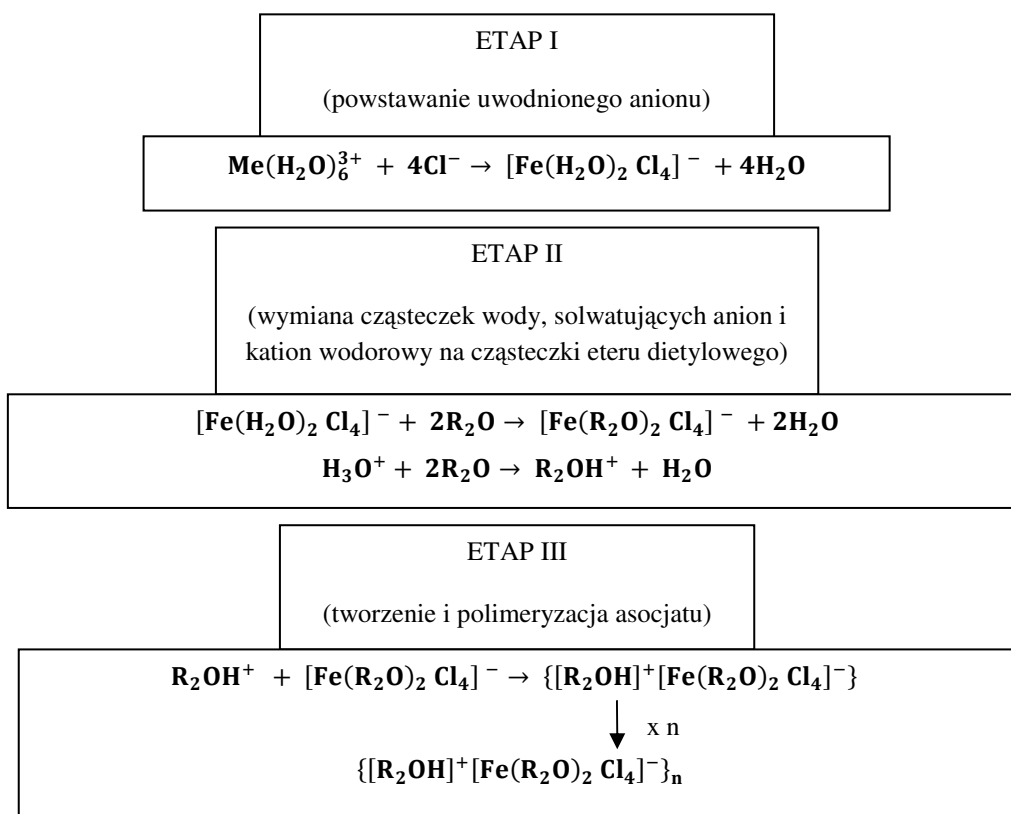
Inną grupą pozwalającą ekstrahować jony metali oraz kwasy organiczne i nieorganiczne są **aminy o dużych masach cząsteczkowych**, np. tributylamina, TBA, tri-n-oktyloamina, TOA czy metylo-di-n-oktyloamina, MDOA. Ich roztwory w benzenie, ksylenie, chloroformie czy alkoholu amyłowym umożliwiają ekstrakcję z kwasowych roztworów jonów metali, kwasów (np. HNO₃, HClO₄) oraz heteropolikwasów (np. kwasu molibdenokrzemowego



gdzie:

R₃N - amina trzeciorzędowa,

A⁻ - anion metalokwasu lub kwasu.



Rysunek 36. Schemat ekstrakcji jonów metalu trójwartościowego eterem dietylowym w obecności dużych ilości kwasu chlorowodorowego

Azotany wielowartościowych metali można ekstrahować ze środowiska kwaśnego jako asocjaty z eterem dietylowym, ketonem metylo-izobutylo-owym, fosforanem tri-n-butylo-owym (TBP), fosforanem tri-n-oktyloaminy (TOPO) i in. Asocjaty te, jak np. $\text{Ce}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{TBP}$ czy $\text{Zr}(\text{NO}_3)_4 \cdot 2\text{TOPO}$, można ekstrahować rozpuszczalnikami organicznymi. Duże kationy organiczne, jak jon tetrafenylarsoniowy $[\text{As}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]^+$ czy jon tetrafenylfosfoniowy $[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]^+$ nie wymagają solwatacji aby utworzyć asocjaty z anionami (np. z SCN^- , $\text{Fe}(\text{SCN})_4^-$, SbCl_6^-). Asocjaty te ekstrahuje się niepolarnymi rozpuszczalnikami. W tabeli 18 podano przykłady ekstrakcji jonów metali za pomocą odczynników kompleksujących.

Tabela 18 Zastosowanie odczynników kompleksujących do ekstrakcji jonów niektórych pierwiastków

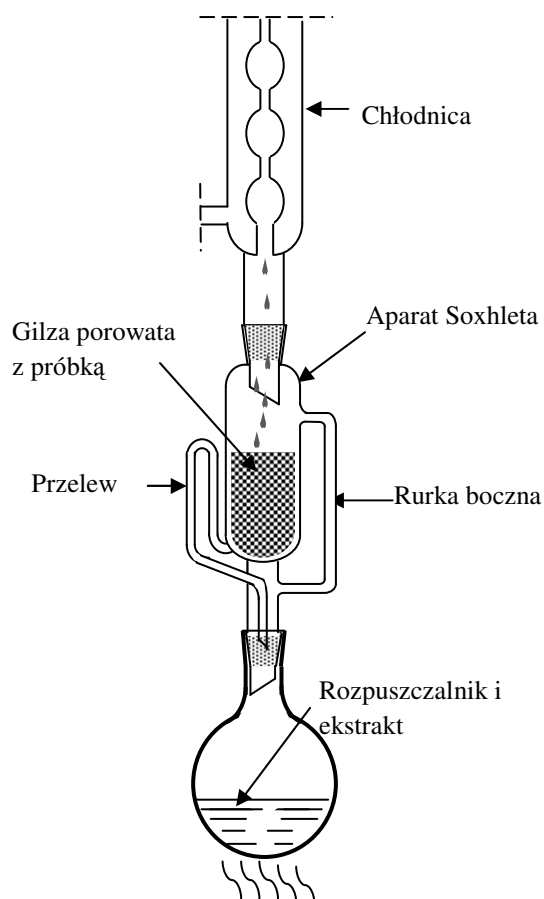
Pierwiastek	Odczynnik kompleksujący	Rozpuszczalnik	Warunki ekstrakcji	Uwagi
Nikiel	Dimetyloglioksym	Chloroform	Zasadowe lub obojętne	Oddziela się jony niklu od jonów miedzi, żelaza, kobaltu, chromu, manganu i in.
Żelazo(III)	Kwas solny	Eter dietylowy, wyższe ketony, etery i estry	Kwas solny 6 mol L ⁻¹	Usuwanie żelaza przeszkadzającego w oznaczaniu innych pierwiastków
Kobalt	Izotiocyanian	Keton metylo-izobutyloowy	Słabo kwaśne	Oddziela się jony kobaltu od jonów żelaza(III), miedzi(II) i innych
	Tri-n-oktyloamina	Tetrachlorek węgla (tylko do rozcieńczenia)	Kwas solny 1:1	Do oznaczania domieszek kobaltu w niklu
Krzem	Molibdenian(VI) amonu	Alkohol izopentyloowy	Kwaśne	Przeszkadzają fosfor(V), arsen(V) i german(IV)
Uran(VI)	Kompleks azotanowy solwatowany tri-n-butylofosoranem	Toluen (tylko do rozcieńczenia)	Kwas azotowy 0,1-1 mol L ⁻¹ oraz duże stężenie azotanu(V)	Przy wyższej kwasowości ekstrahują się jony ceru(IV), toru i cyrkonu
Różne metale	8-Hydroksychinolina, dietyloditiokarbaminian i ditizon	Chloroform	Zmienne pH	Stosowane do analizy śladowej wody

7.3.5. Techniki ekstrakcji w układzie ciało stałe-ciecz

7.3.5.1. Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w aparacie Soxhleta

Klasyczną ekstrakcją ciągłą próbek stałych jest ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w aparacie Soxhleta (rysunek 37). Jest to połączenie ekstrakcji i destylacji, które zachodzą w obiegu zamkniętym, co powoduje, że próbka jest ekstrahowana wielokrotnie, za każdym razem świeżą porcją rozpuszczalnika. Ekstrakcja w aparacie Soxhleta jest zdecydowanie bardziej ekonomiczna niż klasyczna ekstrakcja przez wytrząsanie, bo zmniejsza zużycie rozpuszczalnika. Kolbę ogrzewa się, powodując odparowanie znajdującego się w niej rozpuszczalnika, którego pary przechodzą rurką boczną do chłodnicy, gdzie ulegają schłodzeniu i skropleniu. Kondensat z chłodnicy wpływa do gilzy z próbką i pojemnika szklanego, powoli je wypełniając. Gdy poziom rozpuszczalnika w pojemniku osiągnie wysokość rurki bocznej, ekstrakt przelewa się do kolby. Proces ten powtarza się automatycznie tak długo, jak długo ogrzewana jest kolba z rozpuszczalnikiem.

Z kolby odparowuje tylko rozpuszczalnik i w czasie procesu stężenie ekstraktu w kolbie wzrasta.



Rysunek 37. Schemat budowy zestawu do ekstrakcji za pomocą aparatu Soxhleta

Technika ekstrakcji w aparacie Soxhleta, mimo że jest procedurą długotrwałą, daje najdokładniejsze wyniki i jest stosowana jako metoda odniesienia dla innych, szybkich technik i wciąż ulepszana.

Stosowane są różne wersje aparatów Soxhleta, umożliwiające:

- ekstrakcję przy podwyższonym ciśnieniu,
- podwójną ekstrakcję (w tym jedną we wrzącym rozpuszczalniku) połączoną z zateżaniem i wstępnym suszeniem ekstraktu,
- ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami,
- ekstrakcję wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym.

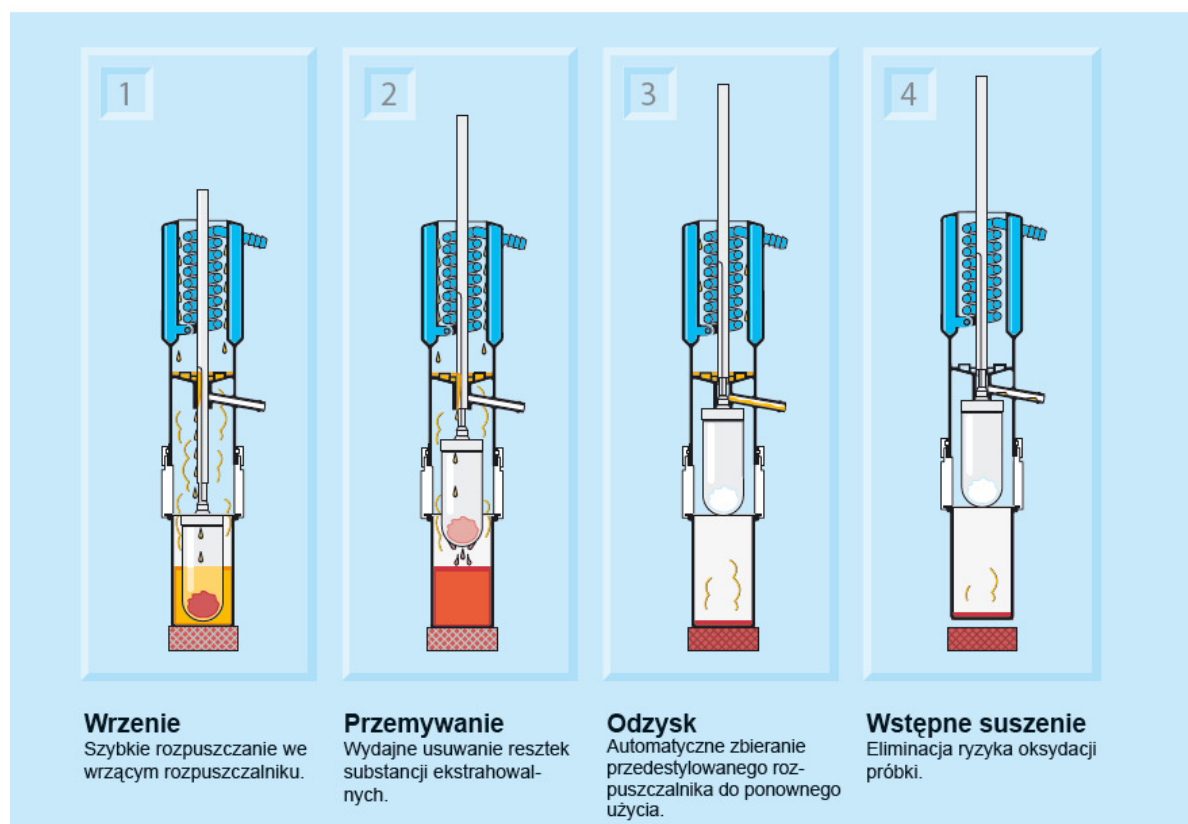
Ekstrakcję przy podwyższonym ciśnieniu wykonuje się w cylindrycznych, wykonanych ze stali nierdzewnej autoklawach z aparatem Soxhleta wewnątrz. Taki zestaw musi być zaopatrzony w system pomp do wody chłodzącej, dla otrzymania kondensatu. Ekstrakcja pod zwiększonym ciśnieniem jest krótka, redukuje zużycie rozpuszczalnika, ale aparatura jest droga. Stosowana jest do izolacji chloroorganicznych pestycydów i polichlorowanych bifenyli z warzyw (marchew, pomidory), z oliwy i liofilizowanego mięsa ryb.

W automatycznych ekstraktorach, wprowadzonych przez firmę Buchi oraz firmę Foss ekstrakcja składa się z dwóch etapów:

- ekstrakcji właściwej we wrzącym rozpuszczalniku,
- ekstrakcji dodatkowej (przemycania) kondensatem rozpuszczalnika.

Podwójną ekstrakcję umożliwia konstrukcja aparatu, w którym pojemnik z gilzą może się znajdować na dwu różnych poziomach: we wrzącym rozpuszczalniku i ponad jego powierzchnią. Budowę i zasadę działania automatycznego ekstraktora Soxtec™, firmy Foss przedstawiono na rysunku 38. Zestaw do ekstrakcji Soxtec™ 2050 składa się z sześciu stanowisk, co oznacza możliwość ekstrakcji jednocześnie 6 próbek. Cały proces jest w pełni zautomatyzowany. W aparacie Soxtec można oznaczać zawartość różnych substancji rozpuszczalnych w rozpuszczalnikach organicznych w takich matrycach, jak: produkty żywnościowe, pasze, gleba, polimery, produkty włókiennicze, masa papiernicza i inne.

System Soxtec jest oficjalnie zaaprobowany i stosowany m.in. w normie ISO 1444:1996, dotyczącej oznaczania wolnych tłuszczów w mięsie i produktach mięsnych oraz w normie EPA 3541, dotyczącej oznaczania polichlorowanych bifenyli w glebie i osadach.



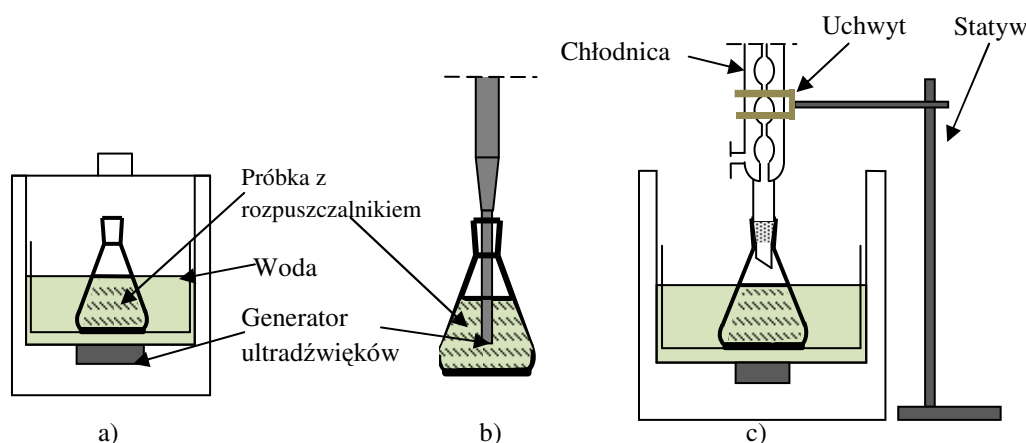
Rysunek 38. Zasada działania automatycznego ekstraktora Soxtec™ 2050 (za zgodą Dyrektora Działu Handlowego FOSS Polska)

7.3.5.2. Ekstrakcja rozpuszczalnikiem wspomagana ultradźwiękami

Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami (ang. *ultrasound-assisted extraction*, UAE) jest stosowana do próbek stałych lub semistałych. Próbkę miesza się z rozpuszczalnikiem ekstrahującym i poddaje działaniu ultradźwięków. Rozchodzenie się fal dźwiękowych w cieczy związane jest z cyklami zagęszczenia i rozrzedzenia, które w cieczy i gazie są zmianami ciśnienia (fala ciśnienia). Zmienne ciśnienie akustyczne powoduje zjawiska wtórne, które przyspieszają proces ekstrakcji. Wśród zjawisk wtórnych, największe znaczenie w procesie przenoszenia mas ma **kawitacja – proces dynamicznego tworzenia się, wzrostu i zaniku pęcherzy parowo-gazowych w cieczy. Kawitacja, tarcie na powierzchniach międzyfazowych i**

absorpcja energii fali akustycznej oraz związane z nimi wydzielanie ciepła sprawia, że wspomaganie ekstrakcji ultradźwiękami **zwiększa rozpuszczalność, dyfuzję, penetrację rozpuszczalnika i transport analitu**, a to zdecydowanie skraca czas ekstrakcji i **zwiększa jej wydajność**.

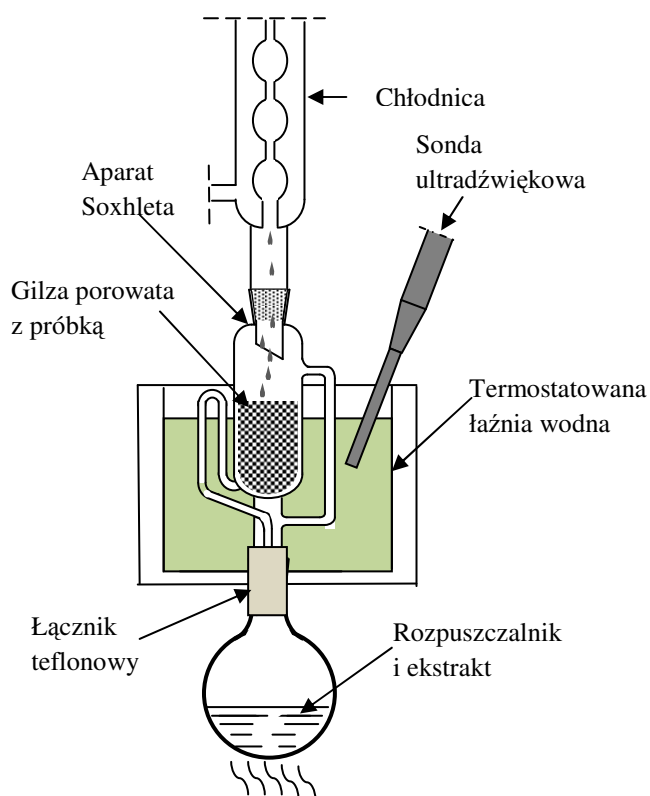
W ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami stosuje się drgania akustyczne o niedużej częstotliwości, rzędu 20÷50 kHz (rzadziej 500 kHz), ale o dużym natężeniu – 140÷160 dB (dla wywołania kawitacji). Ekstrakcję można przeprowadzać **dwoma sposobami**, pierwszy to **zastosowanie łaźni ultradźwiękowej** (rysunek 39a). W tym celu próbkę umieszcza się w szklanym lub metalowym naczyniu i wstawia do łaźni. Zaletą tego sposobu jest możliwość ekstrakcji jednoczesnej wielu próbek. Drugim sposobem jest **użycie sondy generującej ultradźwięki**, zanurzanej bezpośrednio do próbki (rysunek 39b), stosuje się go wtedy, gdy jest konieczność użycia dużej energii, np. do rozerwania tkanek czy komórek. Ilość energii, jaką należy dostarczyć do próbki, zależy od wielu czynników: lepkości i temperatury próbki, obecności par i gazów w cieczy, stężenia i wielkości cząsteczek stałych oraz kształtu i geometrii komory z cieczą. Dużą zaletą ekstrakcji ultradźwiękami jest możliwość przeprowadzania jej z dużą wydajnością w pokojowej temperaturze, co jest bardzo korzystne dla nietrwałych analitów.



Rysunek 39. Ekstrakcja rozpuszczalnikiem wspomagana ultradźwiękami, a – w łaźni ultradźwiękowej, b – z zastosowaniem sondy generującej ultradźwięki oraz c – z zastosowaniem łaźni ultradźwiękowej i grzania pod chłodnicą zwrotną

Do ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami stosowane są różne rozpuszczalniki, w zależności od właściwości chemicznych analitu i matrycy, łącznie z wodą oraz ich mieszaniny. Podczas ekstrakcji lotnymi rozpuszczalnikami, zwłaszcza w podwyższonej temperaturze, można zastosować zestaw z chłodnicą zwrotną, pokazany na rysunku 39c. Zestaw do ekstrakcji w aparacie Soxhleta wspomaganej ultradźwiękami pokazano na rysunku 40. Czas trwania ekstrakcji rozpuszczalnikiem wspomaganej ultradźwiękami jest krótki w porównaniu z klasycznymi metodami i w zależności od próbki wynosi od 10 min do 1 h.

Ekstrakcja rozpuszczalnikiem wspomagana ultradźwiękami jest szeroko stosowana w przemyśle farmaceutycznym (np. ekstrakcja alkaloidów z roślin), perfumeryjnym i spożywczym (np. intensyfikacja wydobycia cukru z buraków albo tranu z wielorybów i ryb) i innych. Ekstrakcja ultradźwiękowa znajduje szerokie zastosowanie w analityce, głównie w biologii i biotechnologii, farmacji oraz ochronie środowiska (np. izolacja pozostałości pestycydów z warzyw i owoców).



Rysunek 40. Ekstrakcja w aparacie Soxhletha wspomagana ultradźwiękami

7.3.5.3. Ekstrakcja rozpuszczalnikiem ze wspomaganie promieniowaniem mikrofalowym

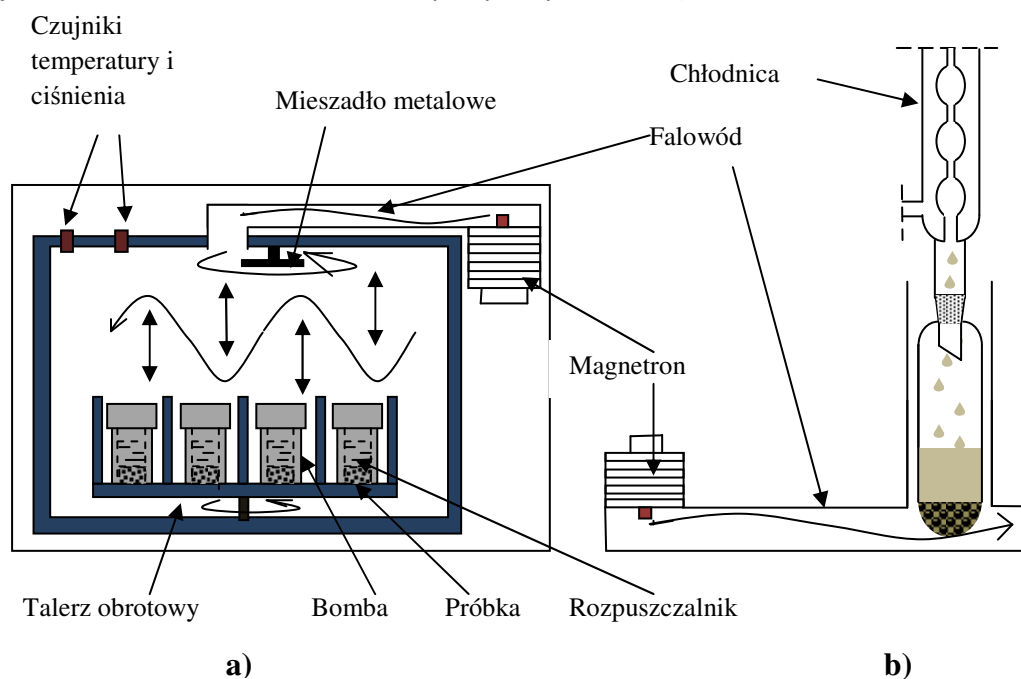
Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (ang. *microwave-assisted extraction*, MAE) jest powszechnie stosowaną techniką do izolacji analitów z próbek stałych. W technice tej wykorzystuje się zjawisko bezpośredniej absorpcji promieniowania mikrofalowego przez cząsteczki substancji.

Skuteczność wspomaganie ekstrakcji promieniowaniem mikrofalowym wynika ze sposobu przekazywania energii cieplnej. Tradycyjne ogrzewanie próbki czy rozpuszczalnika polega na przekazywaniu energii cieplnej ze źródła przez konwekcję lub przewodzenie, co trwa długo i wiąże się ze stratami energii. Mikrofałe natomiast dostarczają energię bezpośrednio cząsteczce związku chemicznego.

Wybór warunków ekstrakcji ze wspomaganie promieniowaniem mikrofalowym uzależniony jest od wyboru rozpuszczalnika, **który przede wszystkim ma rozpuszczać substancję ekstrahowaną**. Jeśli to możliwe, ekstrahent powinien mieć moment dipolowy różny od zera, czyli być rozpuszczalnikiem polarnym, jak: metanol, etanol, woda, aceton, octan etylu, dichlorometan, acetonitryl czy inny. Wskaźnikiem określającym zdolność materii do przekształcania energii mikrofal w energię cieplną jest **tg δ** , zwany **tangensem kąta strat**, **tangensem strat** lub **tangensem delta** (termin strata odnosi się do straty energii fali w wyniku jej absorpcji, a wartości tg δ dla poszczególnych rozpuszczalników można odnaleźć w tablicach fizycznych). Rozpuszczalniki, które mają dużą wartość tangensa δ , np. metanol (tg δ = 0,64), woda (tg δ = 0,157) będą absorbowały promieniowanie mikrofalowe i szybko się grzały. Szybko podgrzane zostaną również ich mieszaniny z niepolarnymi rozpuszczalnikami. Schemat **urządzenia do**

ekstrakcji MAE w układzie zamkniętym przedstawiony jest na rysunku 41a. Próbkę z rozpuszczalnikiem polarnym znajduje się w zamkniętym naczyniu, najczęściej teflonowym, zwanym bombą. Podgrzanie następuje do temperatury powyżej temperatury wrzenia (zwykle do 150÷190°C lub wyżej) i wzrasta ciśnienie, co umożliwia szybką ekstrakcję analitów z matrycy. Obudowa bomby teflonowej musi być z materiału przepuszczającego (nieabsorbującego) promieniowanie mikrofalowe i musi posiadać wskaźnik ciśnienia i zawór bezpieczeństwa, który uruchamia się, gdy ciśnienie przekroczy wartość 10 MPa. Materiał obudowy pozwala wyjąć bombę z pieca mikrofalowego bezpośrednio po ekstrakcji, gdyż nie nagrzewa się. Źródłem promieniowania mikrofalowego jest magnetron połączony z komorą pieca falowodem. Dla uśrednienia energii stosowane jest metalowe mieszadło i obrotowa podstawa, na której znajdują się próbki w bombach. Czujniki temperatury i ciśnienia połączone są z bombami. Komercyjnie dostępne są zestawy do MAE o różnej pojemności naczynia ekstrakcyjnego, od 20 do 120 mL.

Ekstrakcję ze wspomaganie mikrofalowym rozpuszczalnikiem niepolarnym (nieabsorbującym promieniowania mikrofalowego, o małej wartości ϵ) można stosować do próbek, które zawierają składniki zdolne do absorpcji mikrofal. W tym przypadku to składniki próbki szybko ogrzewają się i następnie oddają ciepło do rozpuszczalnika. Składnikiem próbki, który ogrzewa całość jest bardzo często woda w niej zawarta oraz inne polarne substancje. Podczas tego procesu temperatura nie jest wysoka i ekstrakcja może być przeprowadzana w układzie otwartym, przy ciśnieniu atmosferycznym. Schemat urządzenia do **ekstrakcji wspomaganie promieniowaniem mikrofalowym przy ciśnieniu atmosferycznym** przedstawiono na rysunku 41b. W tym urządzeniu energia mikrofal jest kierowana tylko do jednego naczynia, wykonanego zwykle ze szkła lub kwarcu. W ekstrakcji wspomaganie mikrofalami używa się od 2 do 20 g próbki i 30 mL lub mniej rozpuszczalnika. Czas trwania ekstrakcji zwykle nie przekracza 30 min (10÷20 min), czas chłodzenia trwa ok. 20 min. W urządzeniach do celów badawczych wykorzystuje się mikrofałe o częstotliwości 2,45 GHz (piece mikrofalowe do zamkniętej ekstrakcji pod podwyższonym ciśnieniem, rysunek 41a) oraz o częstotliwości 0,9 GHz (w piecach do otwartej ekstrakcji pod ciśnieniem atmosferycznym, rysunek 41b).



Rysunek 41. Zestawy do ekstrakcji wspomaganie promieniowaniem mikrofalowym, a – do ciśnieniowej ekstrakcji (w naczyniu zamkniętym), b - do ekstrakcji przy ciśnieniu atmosferycznym (w naczyniu otwartym)

Ekstrakcję w aparacie Soxhleta wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym (ang. *microwave assisted soxhlet extraction*, MASE) prowadzi się zawsze w systemie otwartym, czyli przy ciśnieniu atmosferycznym. W aparatach do MASE, promieniowanie mikrofalowe włączane jest dopiero po wypełnieniu rozpuszczalnikiem pojemnika z próbką. Mikrofałe są ogniskowane wyłącznie na pojemniku z próbką. Po określonym czasie, gdy promieniowanie zostanie wyłączone, otwiera się zawór na syfonie i ekstrakt spływa do kolby, po czym zaczyna się kolejny cykl. Aparaty do MASE są zautomatyzowane, czas procesu jest krótki a ekstrakcja zachodzi z dużą wydajnością.

MAE jest obecnie szeroko stosowaną techniką ekstrakcji w oznaczaniu takich zanieczyszczeń środowiska, jak: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, polichlorowane bifenyle, pestycydy, fenole, olej mineralny. Stosowana jest do oznaczeń w glebie, roślinach i innych próbkach stałych takich, jak: polimery - do oznaczania oligomerów, tabletki – do oznaczania składu, zioła – do izolacji związków biologicznie aktywnych oraz wiele innych. EPA (*Environmental Protection Agency*) wprowadziła ekstrakcję wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym jako standardową metodę ekstrakcji semilotnych i nielotnych składników z próbek stałych.

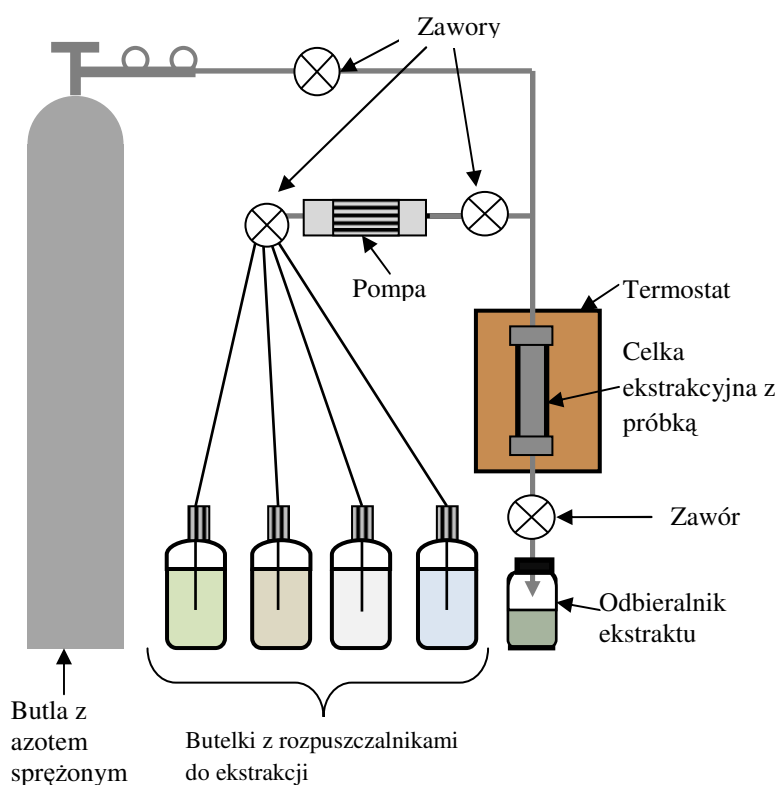
7.3.5.4. Przyspieszona ekstrakcja rozpuszczalnikiem

Jedną ze współczesnych metod ekstrakcji cieczą jest **przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika** (ang. *pressurized fluid extraction*, PFE lub *accelerated solvent extraction*, ASE lub *pressurized liquid extraction*, PLE). W technice ASE stosuje się konwencjonalne rozpuszczalniki, ekstrakcję przeprowadza w szczelnym, wytrzymałym naczyniu, zwanym celką ekstrakcyjną, a przyspieszenie ekstrakcji osiąga przez stosowanie wysokiej temperatury (100÷200°C), co w zamkniętym naczyniu powoduje wzrost ciśnienia nawet do 20 MPa. Wzrost ciśnienia powoduje, że ekstrakcja jest przeprowadzana cieczą, o temperaturze znacznie przewyższającej jej temperaturę wrzenia w warunkach normalnych.

Podwyższona temperatura powoduje zwiększenie rozpuszczalności substancji oraz zwiększenie kinetyki przenoszenia masy – szybszej desorpcji analitu z fazy stałej i szybszej dyfuzji do rozpuszczalnika, zmniejsza lepkość rozpuszczalnika oraz napięcie powierzchniowe, co ułatwia penetrację rozpuszczalnika w głąb matrycy. Poza tym, w wysokiej temperaturze, zakłócany jest stan równowagi na powierzchni styku rozpuszczalnik – matryca, przez osłabienie oddziaływań rozpuszczalnika z matrycą typu sił Van der Waalsa, wiązań wodorowych czy przyciągania dipoli. Daje to lepszy kontakt rozpuszczalnika z próbką, co konsekwencji skraca czas ekstrakcji i zmniejsza ilość używanego rozpuszczalnika. Podwyższone ciśnienie umożliwia głębszą penetrację w matrycę i ekstrakcję analitów zatrzymanych w porach.

Wymuszanie penetracji jest szczególnie korzystne przy wilgotnych próbkach i matrycach silnie adsorbujących anality. Zestaw do przyspieszonej ekstrakcji próbek stałych za pomocą rozpuszczalników (rysunek 42) składa się z termostatowanej komory (pieca), w której umieszcza się celkę z ekstrahowaną próbką, pompy dozującej rozpuszczalnika, odbieralnika ekstraktu i zbiornika obojętnego gazu sprężonego oraz szeregu zaworów, umożliwiających odpowiednie dozowanie. Celka wykonana jest najczęściej ze stali kwasoodpornej. Po umieszczeniu celki z próbką w termostacie,

układ wypełnia się zimnym rozpuszczalnikiem i następnie włącza ogrzewanie komory termostatu. Ekstrakcję prowadzi się zwykle w zakresie temperatur 100÷200°C w czasie 5÷10 min. Ciśnienie w celce ekstrakcyjnej może wzrosnąć do ok. 20 MPa. Jeśli ekstrakcja jest jednostopniowa, analit wypłukuje się świeżą porcją rozpuszczalnika do naczynka na ekstrakt. Ruch rozpuszczalnika jest wymuszany ciśnieniem gazu z butli (najczęściej azotu). Jeśli ekstrakcja ma być wielokrotna, ponownie napełnia się układ zimnym ekstrahentami, włącza ogrzewanie komory termostatu i powtarza cały cykl.



Rysunek 42. Schemat zestawu do przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalników próbek stałych

W technice ASE stosuje się najczęściej kilkugramowe naważki próbek, maksymalnie 10-30 g i małe ilości (kilka mL) rozpuszczalników, stosownie do ilości próbki. Przy oznaczaniu WWA w glebie możliwa była nawet miniaturyzacja ekstrakcji, w której użyto 50 mg próbki i 100 μ L estrahenta. Technika przyspieszonej ekstrakcji próbek stałych za pomocą rozpuszczalników może być w pełni zautomatyzowana i umożliwia wielokrotną ekstrakcję jednym lub różnymi rozpuszczalnikami. Czas ekstrakcji zależy od ilości cykli, jeden cykl trwa zwykle kilka minut. W przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika wykorzystuje się takie same rozpuszczalniki jak w klasycznych metodach. Najczęściej są to aceton, octan etylu, dichlorometan, heksan, toluen, woda. Często stosuje się mieszaninę rozpuszczalników lub dodatek kwasów: octowego, fosforowego i trifluorooctowego. Metoda przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika stosowana jest do izolacji śladowych ilości analitów z próbek stałych i semistałych. Jest metodą

szybką i gwarantującą dużą wydajność, powszechnie zalecaną dla trwałych temperaturowo analitów lub/i matryc.

Na szczególną uwagę zasługuje **przyspieszona ekstrakcja za pomocą wody**. Technikę tą nazywa się skrótem SHWE (ang. *subcritical hot water extraction*) lub PHWE (ang. *pressurized hot water extraction*). **Woda, poniżej punktu krytycznego, który osiąga w temperaturze 374°C i ciśnieniu 22 MPa, jako rozpuszczalnik zmienia swoje właściwości.** W warunkach normalnych, 20°C i ciśnieniu atmosferycznym, wartość stałej dielektrycznej wody wynosi $\epsilon = 78,3$, natomiast w temperaturze 250°C i ciśnieniu 5 MPa wartość ϵ spada do ok. 27, co zbliża właściwości wody w tych warunkach do właściwości etanolu w warunkach normalnych ($\epsilon_{\text{etanol}} = 24,3$). W konsekwencji zwiększa się rozpuszczalność w wodzie wielu związków średniopolarnych. Poza tym wzrost temperatury i ciśnienia zmniejsza napięcie powierzchniowe wody oraz lepkość, co zwiększa wydajność ekstrakcji.

W przyspieszonej ekstrakcji wodą stosuje się temperatury od 100 do 374°C i ciśnieniu pozwalającym utrzymać stan ciekły wody. Jeśli woda przejdzie w stan pary stanie się bardzo korozyjnym i agresywnym dla analitów medium, o czym należy pamiętać przy doborze warunków ekstrakcji. Woda nie jest kompatybilnym rozpuszczalnikiem z chromatografią gazową, konieczna jest ekstrakcja z wody do rozpuszczalnika organicznego lub do fazy stałej. Ekstrakcja z wody jest bardzo wydajna, bo przy obniżaniu jej temperatury do pokojowej rozpuszczalność analitów gwałtownie spada.

Technikę przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika początkowo zastosowano do ekstrakcji organicznych, śladowych zanieczyszczeń gleby i osadów ściekowych. EPA wprowadziła ASE, jako metodę standardową izolacji organicznych analitów ze środowiskowych próbek stałych, zwłaszcza do ekstrakcji WWA, oleju mineralnego oraz **trwałych zanieczyszczeń środowiska**, tzw. **POP** (ang. *Persistent Organic Pollutants*) z gleby, osadów oraz pyłów. Do POP zalicza się takie zanieczyszczenia, jak: chloroorganiczne i fosforoorganiczne pestycydy, polichlorowane bifenyle i dioksyny. Obecnie technika ASE jest stosowana do oznaczania pestycydów w roślinach, produktach żywnościowych i w tkankach zwierzęcych, do oznaczania aflatoksyn, furanów, związków cyjanoorganicznych. Stosowana jest również do izolowania plastyfikatorów z polimerów, dodatków i aktywnych składników farmaceutyków jak i izolacji tłuszczów z próbek żywności.

7.3.5.5. Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym

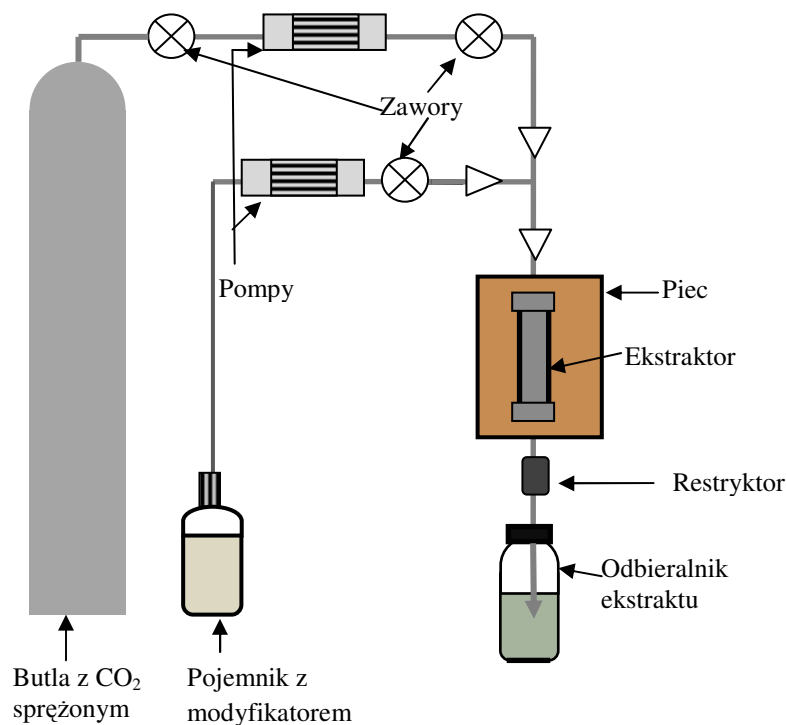
Szczególnym przypadkiem ekstrakcji cieczą jest ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (ang. *supercritical fluid extraction, SFE*). Cieczą a raczej **płynem w stanie nadkrytycznym jest medium znajdujące się w warunkach powyżej warunków punktu krytycznego, tzn. ma temperaturę wyższą od temperatury krytycznej i jest pod ciśnieniem wyższym od ciśnienia krytycznego.** Wykres przemian fazowych przy zmianie temperatury i ciśnienia charakteryzują dwa punkty, które określają, w jakich warunkach trwałe są różne stany skupienia substancji. Są to punkt potrójny i punkt krytyczny. Powyżej wartości punktu potrójnego, w zależności od zmian wartości ciśnienia i temperatury, aż do wartości punktu krytycznego, mogą istnieć trzy stany skupienia substancji – gazowa, ciekła i stała. Powyżej wartości określanych przez punkt krytyczny, substancja znajduje się w stanie nadkrytycznym, w którym zanika różnica między gazem a cieczą i zmiany ciśnienia i temperatury powyżej tego punktu nie zmieniają jej stanu skupienia. Punkt potrójny i punkt krytyczny są wielkościami charakterystycznymi dla danej substancji.

Substancja w stanie nadkrytycznym ma właściwości pośrednie między gazem a cieczą. Płyn w stanie nadkrytycznym ma gęstość zbliżoną do gęstości cieczy (0,2÷0,9 g/mL), lepkość zbliżoną do lepkości gazu (10^{-4} g/s cm) a współczynnik dyfuzji mniejszy niż dla gazu ale wyższy niż dla cieczy (10^{-4} cm²/s). Gęstość płynu w stanie nadkrytycznym sprawia, że substancje rozpuszczają się w nim jak w cieczy, mała lepkość płynu i niskie napięcie powierzchniowe sprzyjają penetracji matrycy podobnej do penetracji gazu, współczynnik dyfuzji powoduje, że przenoszenie masy jest szybsze niż w cieczy.

Wymienione cechy są bardzo korzystne dla procesu ekstrakcji. Najpowszechniej stosowany jest ditlenek węgla (CO₂), przede wszystkim dlatego, że ma niską temperaturę krytyczną (31,1°C), niskie ciśnienie krytyczne (7,38 MPa), jest nietoksyczny i niepalny oraz łatwy do otrzymania o wysokiej czystości. **Ditlenek węgla jest niepolarny, można nim ekstrahować z dużą wydajnością związki tylko niepolarne i średniopolarne. Aby zwiększyć wydajność ekstrakcji ditlenkiem węgla związków polarnych i silnie związanych z matrycą można zastosować dodatek małych ilości (1÷10%) substancji polarnych, zw. modyfikatorami.** Najczęściej stosowanymi modyfikatorami są: metanol, etanol, alkohol izopropylowy, aceton, acetonitryl, dichlorometan, toluen, kwas mrówkowy i ditlenek siarki.

Próbki o zwartej strukturze matrycy, zawierające trudnorozpuszczalne anality muszą mieć zapewniony długi czas kontaktu z ekstrahentem, dlatego ich ekstrakcję przeprowadza się sposobem statycznym. Sposób dynamiczny stosuje się do próbek łatwo penetrowanych przez płyn i zawierających anality dobrze w nim rozpuszczalne.

Schemat zestawu do ekstrakcji płynem w stanie nadkrytycznym przedstawiono na rysunku 43. Zestaw składa się z pieca o regulowanej temperaturze, w którym znajduje się ekstraktor, restryktora i odbieralnika ekstraktu. Do ekstraktora doprowadzany jest ze stalowej butli sprężony gaz CO₂ oraz - jeśli to konieczne – modyfikator. **Sprężony gaz i modyfikator, po osiągnięciu w piecu właściwej temperatury stanu nadkrytycznego, stanowią ekstrahent, który jest wprowadzany do próbki w sposób statyczny (jednorazowo) lub dynamiczny (w sposób ciągły).** Po zakończeniu procesu ekstrakt wprowadzany jest do odbieralnika poprzez restryktor (przewężenie), którego zadaniem jest obniżenie ciśnienia wychodzącego płynu. Stosowane są restryktory stałe i zmienne. Restryktor stały to rurka o stałej średnicy wykonana z metalu lub topionej krzemionki lub kwarcu. Restryktor zmienny ma kryzę lub otwór wylotowy o wymiarach sterowanych elektronicznie. Restryktory stałe często zatykają się z powodu zamarzania w nich wody przy szybkim rozprężaniu płynu, z powodu obecności siarki elementarnej lub dużych ilości węglowodorów czy tłuszczów w ekstrakcie, ale są bardzo tanie i łatwe do zamontowania, w porównaniu do bardzo drogich restryktorów elektronicznych. Po obniżeniu ciśnienia, ekstrakt jest kierowany do odbieralnika. Stosowane są dwa sposoby odzyskiwania analitów z ekstraktu: absorpcja w rozpuszczalniku i adsorpcja na sorbencie stałym. Absorpcja w rozpuszczalniku jest prosta i łatwa w optymalizacji warunków, ale wiąże się ze stratami analitu w postaci aerozolu lub/i stratą rozpuszczalnika. Warunki adsorpcji na sorbencie stałym są trudniejsze do ustalenia, ale odzysk jest bez strat i istnieje możliwość selektywnego wymywania substancji z adsorbentu.



Rysunek 43. Schemat zestawu do ekstrakcji płynem (CO₂) w stanie nadkrytycznym

Dobór warunków SFE powinien uwzględniać parametry procesu (ciśnienie, temperaturę, szybkość przepływu w procesie dynamicznym, czas ekstrakcji, wielkość próbki i pojemność ekstraktora) oraz właściwości chemiczne i fizyczne matrycy (np. postać fizyczna, jednorodność, rozpuszczalność, zdolność do adsorpcji i desorpcji analitów i in.).

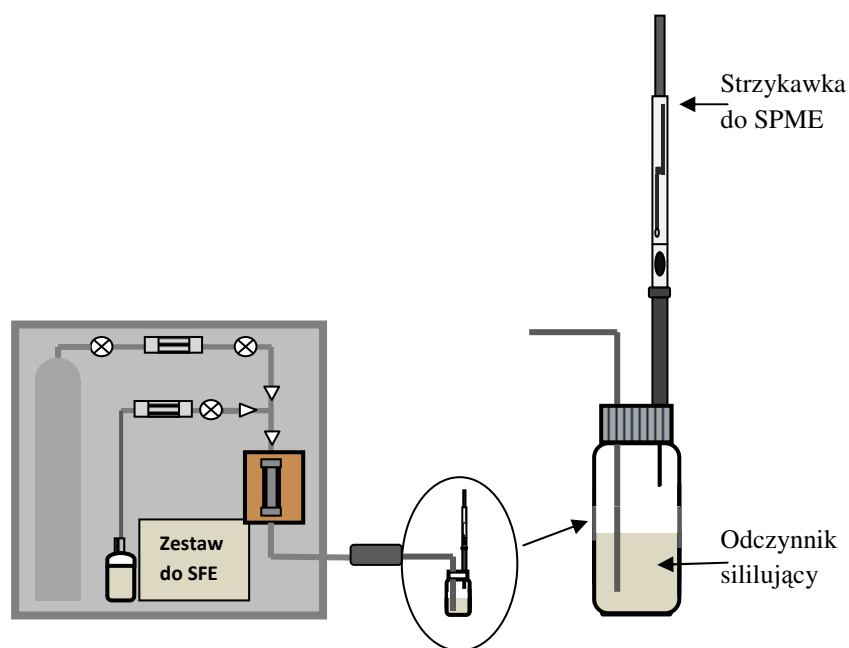
Zmieniając parametry procesu, zmienia się właściwości płynu w stanie nadkrytycznym. Gęstość płynu ulega zmianie ze zmianą ciśnienia oraz temperatury. Płyn o mniejszej gęstości ma właściwości rozpuszczalników niepolarnych, natomiast o dużej gęstości – właściwości bardziej polarnych rozpuszczalników, jak np. dichlorometanu.

Duże znaczenie w zwiększaniu rozpuszczalności analitów ma dodatek modyfikatora do CO₂. Czas ekstrakcji i szybkość przepływu płynu w procesie dynamicznym należy dopasować do właściwości matrycy, aby zapewnić wystarczający czas kontaktu CO₂ z analitem. Można zmodyfikować również próbkę przez wymieszanie jej z sorbentem stałym o odpowiednich właściwościach, aby nie dopuścić do ekstrakcji związków przeszkadzających. Dodatek do próbki polarnego żelu krzemionkowego powoduje zatrzymanie w matrycy wielu balastowych, polarnych i średnio polarnych substancji. SFE trwa zwykle od 10 do 60 min, analityczne próbki mają zwykle masę mniejszą niż 10 g a minimalna ilość płynu wynosi ok. 10 mL. W metodzie dynamicznej szybkość przepływu płynu wynosi od 1 do 4 mL/min.

Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym jest szeroko stosowaną techniką wyodrębniania zanieczyszczeń środowiska, jak WWA i innych węglowodorów, PCB, fenoli, pestycydów i herbicydów z próbek stałych. SFE stosuje się również do oznaczania zanieczyszczeń w wodzie, uprzednio wyizolowanych do sorbentu stałego. Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym znalazła również zastosowanie w izolacji zanieczyszczeń z żywności i paszy, do izolacji aktywnych biologicznie

składników ziół, przy oznaczaniu aktywnych składników farmaceutyków i kosmetyków. SFE jest również łączona z innymi technikami ekstrakcyjnymi, np. przy oznaczaniu parabenowych (estry kwasu p-hydroksybenzoesowego) środków konserwujących i polifenolowych przeciwutleniaczy w kosmetykach zastosowano ekstrakcję SFE w połączeniu z bezpośrednią derywatyzacją analitów i ekstrakcją metodą HS-SPME (patrz: rozdz. 7.3.7.1. Mikroekstrakcja do fazy stałej). Parabeny i polifenole są nielotne, aby je oznaczać metodą chromatografii gazowej, należy je przeprowadzić w pochodne, np. w etery sililowe. Schemat takiej procedury przedstawiono na rysunku 44. Ekstrakt uzyskany techniką SFE jest wprowadzany do odbieralnika, zawierającego odczynnik do sililowania. Parabeny i polifenole zawierają grupy hydroksylowe, które reagują z odczynnikiem, w czego wyniku powstają etery sililowe, sorbujące się na włóknie SPME. Włókno z analitami jest następnie wprowadzane do dozownika chromatografu gazowego i analizowane połączonymi technikami chromatografii gazowej i spektrometrii mas (GC/MS) (patrz Część V, rozdz. 3.3. Połączenie chromatografii gazowej ze spektrometrią mas oraz Część VI, rozdz. 3.1. Spektrometria mas).

Najczęściej SFE jest stosowana w oznaczeniach zanieczyszczeń środowiska (ponad 40% wszystkich zastosowań), w przemyśle (ok. 20%) oraz w analizie żywności (ok. 14%).



Rysunek 44. Schemat zestawu do izolacji parabenów i polifenoli z kosmetyków połączonymi metodami SFE i HS-SPME

7.3.6. Ekstrakcja do fazy gazowej

Lotne składniki organiczne próbek wodnych oraz stałych można izolować **metodą ekstrakcji do fazy gazowej**. Metodę tę stosuje się w przypadku próbek szczególnie trudnych do analizy, wymagających uciążliwego i skomplikowanego oczyszczania oraz zagęszczania. **Ekstrakcja do fazy gazowej polega na przenoszeniu analitów do fazy gazowej nad powierzchnią próbki (nadpowierzchniowej fazy gazowej, ang. *Head Space*, HS) w układzie zamkniętym lub do strumienia gazu przepływającego przez próbkę.** W obu technikach istotną rolę odgrywa podwyższona temperatura, dzięki której wspomagane są procesy desorpcji analitu z fazy ciekłej lub stałej do gazowej.

Podstawą ilościowego oznaczania statyczną metodą ekstrakcji do gazowej fazy nadpowierzchniowej jest zmienność ciśnienia cząstkowego substancji w fazie gazowej wraz ze zmianą jej stężenia w fazie ciekłej. W układzie zamkniętym, w stanie równowagi termodynamicznej przy danym ciśnieniu i temperaturze, stosunek stężeń składnika i w obu fazach jest wielkością stałą, której wartość wyraża stała podziału substancji i – K_i :

$$K_i = \frac{c_{iL}}{c_{iG}} \quad (24)$$

gdzie:

c_{iL} - stężenie substancji i w fazie ciekłej,
 c_{iG} - stężenie substancji i w fazie gazowej.

Korzystając z bilansu mas w stanie równowagi termodynamicznej i definicji stałej podziału, otrzymuje się równanie wyrażające związek między stężeniem badanej substancji w próbce ciekłej a jej stężeniem w fazie gazowej:

$$c_{iL}^0 = c_{iG} \left[\frac{V_G}{V_L} + K_i \right] \quad (27)$$

gdzie:

V_G - objętość fazy gazowej,
 V_L - objętość fazy ciekłej.

Jest to podstawowe równanie stosowane w oznaczeniach ilościowych techniką HS w połączeniu z chromatografią gazową. Stężenie badanej substancji w próbce ciekłej jest proporcjonalne do jej stężenia w fazie gazowej, będącej w stanie równowagi termodynamicznej z fazą ciekłą.

Wyrażenie $\left[\frac{V_G}{V_L} + K_i \right]$ jest współczynnikiem proporcjonalności, który należy wyznaczyć doświadczalnie metodą krzywej kalibracyjnej. Przy wykonywaniu pomiarów do krzywej kalibracyjnej należy nastrzykiwać na kolumnę chromatograficzną identyczną objętość fazy gazowej jak w przypadku próbki badanej. **Próbki do wyznaczenia krzywej kalibracyjnej muszą mieć te same objętości fazy ciekłej V_L i fazy gazowej V_G , oraz niezmienną wartość stałej podziału K_i .** Szczególnie trudny do zachowania jest warunek ostatni, tj. zachowanie tej samej wartości stałej podziału w próbkach wzorcowych i badanych, co się wiąże z zachowaniem takiego składu jakościowego próbek wzorcowych jak próbek badanych.

Innym sposobem wyznaczenia wartości stężenia składnika w próbce jest **eliminacja z obliczeń stałej podziału: rzeczywista i rachunkowa**. Rzeczywistą eliminację można osiągnąć przez ekstrakcję w temperaturze podwyższonej (takiej, by cały analit znajdował się w stanie gazowym), wówczas $c_{iL} = 0$, więc i $K_i = 0$, a zawartość w próbce oznaczyć stosując metodę chromatograficzną. Nie jest to jednak metoda uniwersalna, można ją wykorzystywać do substancji lotnych i dobrze rozpuszczalnych w wodzie o małych stałych podziału. Rachunkowo eliminuje się stałą podziału z obliczeń w **metodzie dodatku wzorca**. Najdogodniejszym sposobem tej metody jest wykonanie dwóch analiz równoległych, jednej bez dodatku, drugiej z dodatkiem znanej ilości analitu. Zaletą jest również to, że

można go stosować w automatycznych dozownikach chromatografów gazowych. Korzystając jak poprzednio z bilansu mas substancji oznaczanej w obu analizach i definicji stałej podziału otrzymuje się wzór na obliczenie **nieznanego stężenia początkowego (c_0) w fazie ciekłej (próbce)** na podstawie stężeń c_{1G} i c_{2G} analitu w fazie gazowej, odpowiednio przed i po dodaniu wzorca:

$$c_0 = \frac{m_w}{V_L} \frac{c_{1G}}{c_{2G} - c_{1G}} \quad (28)$$

gdzie:

m_w - masa wzorca dodanego do V_L objętości próbki.

Ponieważ wielkość sygnałów chromatograficznych (A) jest wprost proporcjonalna do stężenia analitu w gazie gazowej (c_G), równanie można zapisać w postaci praktycznej, a mianowicie:

$$c_0 = \frac{m_w}{V_L} \frac{A_1}{A_2 - A_1} \quad (29)$$

Mnożąc obie strony równania przez wartość V_L otrzymujemy wzór na masę analitu w badanej próbce (m_0):

$$m_0 = m_w \frac{A_1}{A_2 - A_1} \quad (30)$$

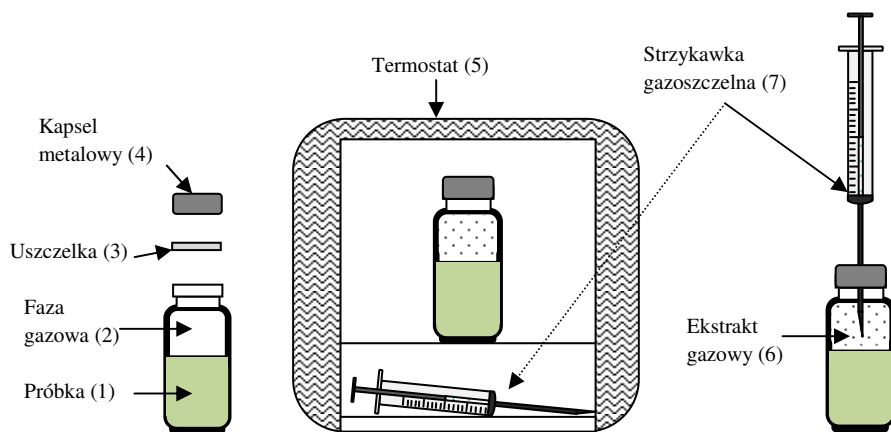
gdzie:

A_1 i A_2 - wielkości (powierzchnie) sygnału chromatograficznego analitu, odpowiednio przed i po dodaniu wzorca.

7.3.7. Techniki ekstrakcji do fazy gazowej

7.3.7.1. Statyczna metoda ekstrakcji do fazy nadpowierzchniowej

Technikę „headspace” można wykonywać w dwóch układach ekstrakcyjnych: statycznym i dynamicznym. **Statyczna metoda ekstrakcji do fazy nadpowierzchniowej (ang. *static head space*, SHS) należy do metod równowagowych.** W zamkniętym naczyniu, zawierającym próbkę ciekłą i gaz obojętny, w określonej temperaturze ustala się między fazami stan równowagi termodynamicznej, w którym stosunek stężeń analitów w obu fazach jest zgodny z ich stałą podziału. Po pobraniu określonej objętości fazy gazowej i oznaczeniu jej składu, uzyskuje się informację o składzie próbki. Ekstrakcję można przeprowadzać przy użyciu powietrza, pod warunkiem, że nie ma w nim analitów, a składniki powietrza nie oddziałują z substancjami oznaczanymi. Schemat postępowania w przypadku metody statycznej przedstawiony jest na rysunku 45. Po napełnieniu naczynka HS próbką (1) i fazą gazową (2) należy je zamknąć szczelnie za pomocą uszczelki (3) i kapsła metalowego (4) używając kapsłownicy. Zamknięte naczynko wstawia się do termostatu (5), gdzie w czasie t i temperaturze T ustala się stan równowagi. Czas i temperaturę termostatowania należy ustalić eksperymentalnie dla każdego analitu i matrycy. Po ustaleniu się stanu równowagi ekstrakt gazowy (6) pobiera się gazoszczelną strzykawką (7), która była termostatowana w tej samej temperaturze, co próbka. Ogrzanie strzykawki zapobiega wykraplaniu się analitów podczas pobierania ekstraktu gazowego oraz oczyszcza ją przez odparowanie ewentualnych pozostałości po poprzednim użyciu.



Rysunek 45. Schemat postępowania w statycznej ekstrakcji do fazy gazowej

W automatycznych urządzeniach (przystawkach do chromatografu gazowego) schemat postępowania jest podobny do schematu przedstawionego na rysunku 45.

7.3.7.2. Dynamiczna metoda ekstrakcji do fazy nadpowierzchniowej

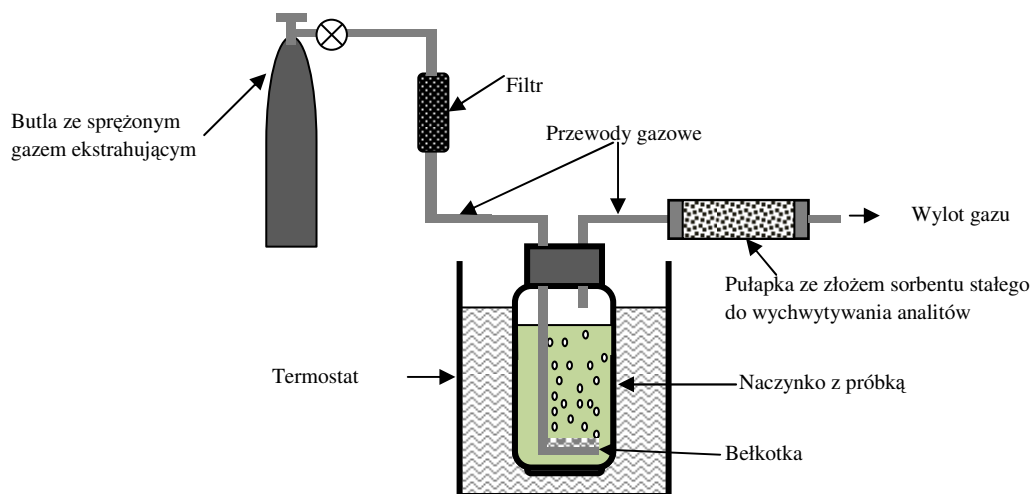
Dynamiczna metoda ekstrakcji do gazowej fazy nadpowierzchniowej (ang. *dynamic head space*, DHS) **należy do technik nierównowagowych** i polega na przepływie strumienia gazu ekstrahującego nad powierzchnią ogrzanej próbki. Ekstrakcja dynamiczna jest bardziej wydajna niż statyczna, gdyż kolejne porcje gazu porywają wydzielające się do fazy nadpowierzchniowej anality. Stosuje się ją w przypadku niskiego stężenia oznaczanych związków w matrycy lub z powodu małych wartości stałej podziału. Poza tym jest to dogodna metoda izolacji substancji z silnie pieniających się cieczy. Wadą jest natomiast duże zużycie gazu i konieczność izolowania analitów z fazy gazowej, gdyż dużej objętości gazu nie da się wprowadzić do dozownika chromatografu gazowego.

Sposobem na zwiększenie powierzchni kontaktu przepływającego gazu z próbką jest ekstrakcja do fazy gazowej przepływającej nad cienką warstwą (filmem) ciekłej próbki. Metoda ta nosi nazwę angielską *thin layer head space*, TLHS. Duże rozwinięcie powierzchni kontaktu występuje również w przypadku rozprysku próbki ciekłej w fazie gazowej.

Odrębną, nierównowagową metodą izolacji analitów jest **technika wymywania i wychwytywania** (ang. *purge and trap*, PT), która może być wykonywana w układzie zamkniętym i otwartym. Polega ona na wymywaniu analitu przez gaz ekstrahujący przepuszczany przez warstwę próbki ciekłej a następnie usuwaniu analitu z gazu. W czasie przechodzenia kolejnych objętości gazu przez próbkę następuje zmniejszanie się w niej zawartości analitu.

W technice PT wymywanie i wychwytywanie analitów jest prowadzone w tym samym czasie, przy otwartym obiegu gazu ekstrahującego, którym najczęściej jest hel. Schemat i zasadę działania takiego zestawu przedstawiono na rysunku 46. Próbkę umieszcza się w specjalnym, szczelnym naczynku, do którego doprowadzany jest gaz obojętny przewodem zakończonym bełkotką. Przepływ gazu ekstrahującego przez próbkę i pułapkę wymuszany jest ciśnieniem gazu w butli. Ekstrahent nie może wprowadzać zanieczyszczeń do próbki, dlatego gaz przepuszczany jest przez filtr, dla usunięcia ewentualnych niepożądanych substancji. Gaz, przepływając przez próbkę w postaci rozproszonych pęcherzyków, zabiera ze sobą lotne substancje, które następnie są zatrzymywane przez sorbent stały znajdujący się w pułapce. Objętość badanej próbki zależy od stężenia oznaczanych w niej związków chemicznych, zwykle wynosi kilka lub kilkanaście mL. Czas i objętość przepuszczanego gazu należy dostosować do wartości stałej podziału analitu. Najczęściej gaz przepuszczany jest przez próbkę przez

kilka do kilkudziesięciu minut z prędkością od 10 do 40 mL/min. Dla związków lotnych, o dużej wartości stałej podziału, wystarczające stężenie analitu w fazie gazowej można osiągnąć już w temperaturze pokojowej. Dla związków średniolotnych lub trudnolotnych, np. polarnych, należy stosować podwyższoną temperaturę ekstrakcji, by zwiększyć jej wydajność. Związki polarne ulegają solwatacji w roztworach próbek, co zmniejsza ich lotność (następuje przesunięcie równowagi w kierunku fazy ciekłej).



Rysunek 46. Schemat zestawu do ekstrakcji przez wymywanie i wychwytywanie (PT) w układzie otwartym

W ekstrakcji przez wymywanie i wychwytywanie często stosuje się wysalanie próbki zwiększające wydajność (im większa siła jonowa roztworu próbki, tym mniejsza rozpuszczalność w niej składników organicznych). W zestawie do ekstrakcji w układzie zamkniętym gaz doprowadzany jest do próbki i pułapki za pomocą pompy. Oczyszczony z analitu gaz po wyjściu z pułapki zwracany jest do ekstrakcji.

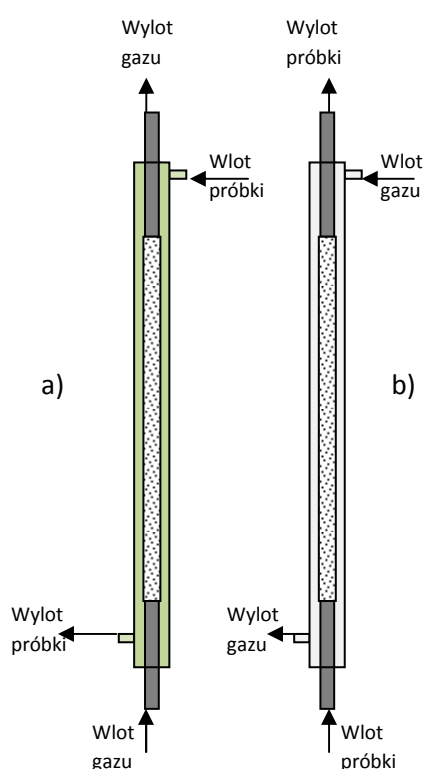
W dynamicznych metodach ekstrahowane związki trzeba izolować z fazy gazowej, ponieważ znajdują się w dużej jej objętości. Pułapki powinny zapewniać ilościowe wychwycenie składników oraz ilościowe i łatwe uwolnienie analitów. W zależności od właściwości fizyko-chemicznych analitów, wychwytywanie można stosować poprzez **adsorpcję na sorbentach stałych, absorpcję w roztworach lub fazach ciekłych osadzonych na nośniku lub przez wymrażanie.**

Sorbenty stałe powinny się charakteryzować określoną wytrzymałością termiczną i odpowiednią powierzchnią właściwą. Najczęściej stosowanymi sorbentami stałymi są sorbenty węglowe takie, jak: grafityzowana sadza węglowa (Carbotrap B lub C), węglowe sita molekularne (Carboxen, Carbosieve S-II i S-III) oraz polimery syntetyczne, jak politlenek 2,6-difenylo-*p* fenyleneowy znany pod nazwą Tenax GC, Tenax TA czy łączony z grafitem Tenax GR. Stosowane są również żele krzemionkowe i węgiel aktywny. Największą wytrzymałość termiczną posiada węgiel aktywny - pow. 700°C, najniższą żel krzemionkowy - 300°C. Syntetyczne sorbenty wytrzymują temperaturę 400 °C. Największą powierzchnię właściwą posiadają: węgiel aktywny, Carbosieve S-III i S-II, Carboxen i żel krzemionkowy (od 300 do 1000 m²/g), mniejszą Tenax (18 m²/g) i Carbotrap C i B - odpowiednio 10 i 90 m²/g. Wymienione sorbenty stałe, poza żelem krzemionkowym, mają charakter hydrofobowy. Zakres

zastosowania sorbentów stałych używanych w technice wmywania i wychwytywania przedstawiono w tabeli 12 (*patrz rozdz. 7.2. Adsorpcja*).

Pułapka kriogeniczna (wymrażająca) jest to niewielki odcinek kapilary ze spiekanej krzemionki, pusty lub pokryty fazą ciekłą, umieszczony w termostacie. Termostat można schłodzić do temperatury -196°C a następnie gwałtownie ogrzać do temperatury 300°C z szybkością $1200^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Ekstrakty gazowe, które mają być przepuszczane przez pułapki kriogeniczne **nie mogą zawierać wody**.

Dynamiczną formą ekstrakcji do fazy gazowej jest **mikroekstrakcja przez porowate włókno polimerowe**, która może być realizowana w dwóch wersjach, przedstawionych na rysunkach 47a i 47b. Pierwszy sposób polega na omywaniu próbką porowatego włókna, przez które płynie w przeciwnym kierunku gaz ekstrahujący, w drugim sposobie gaz ekstrahujący omywa porowate włókno, przez które przepływa próbka. Jak w każdej metodzie dynamicznej, analit musi być izolowany z fazy gazowej.



Rysunek 47. Mikroekstrakcja do fazy gazowej przez porowate włókno

Ekstrakcję do fazy gazowej stosuje się powszechnie do izolacji i oznaczania lotnych składników organicznych w próbkach o złożonej matrycy, mogącej interferować z oznaczanymi związkami. Takimi próbkami są: produkty spożywcze (owoce, miód, wino, moszcz) materiał biologiczny (np. krew, płyny ustrojowe, mleko ludzkie), materiał roślinny (olejki eteryczne, zioła, rośliny lecznicze), wody naturalne, ścieki, osady i gleba. „Headspace” stosuje się do izolacji pozostałości rozpuszczalników w różnych produktach, np. olejach, środkach farmaceutycznych oraz monomerów rozpuszczonych w polimerach.

Do uwalniania lotnych składników z matrycy stałej stosuje się również **desorpcję termiczną w połączeniu z ekstrakcją strumieniem gazu**. W metodzie desorpcji termicznej i ekstrakcji strumieniem gazu czynnikiem ekstrahującym jest temperatura. Pod wpływem ogrzewania

substancje desorbują się z matrycy stałej i są przenoszone strumieniem gazu do pułapki analitów lub bezpośrednio do analizatora, np. chromatografu gazowego. Ten sposób ekstrakcji jest przede wszystkim stosowany do desorpcji analitów z adsorbentów stałych lub filtrów, które były użyte do izolacji substancji z matryc gazowych czy ciekłych i jest stosowany zarówno w laboratoriach analitycznych jak i przemyśle. Urządzenia stosowane w tej technice to **desorbery termiczne**. Stosując odpowiednią temperaturę desorpcji, można ekstrahować anality lotne oraz wysokowrzące, jak WWA czy PCB. Desorbery termiczne składają się z komory, ogrzewanej i termostatowanej elektrycznie, do której wkłada się pojemnik(rurkę) z sorbentem stałym oraz zaworu wielodrożnego i sterownika elektronicznego. Najprostszy sposób desorpcji polega na połączeniu desorbera termicznego z chromatografem gazowym i bezpośrednim wprowadzeniu desorbowanych analitów wraz ze strumieniem gazu nośnego na kolumnę chromatograficzną. Ten sposób stosowany jest do związków, których temperatura wrzenia nie przekracza 200°C. Bardziej skomplikowanym sposobem, z zastosowaniem międzyoperacyjnego wzbogacania analitów, jest:

- **desorpcja termiczna a następnie wymrażanie uwolnionych analitów w pustej kapilarze, dla ich zagęszczenia,**
- **desorpcja termiczna analitów a następnie adsorpcja ich na innym sorbencie, z którego desorpcja wprost do kolumny chromatograficznej jest łatwiejsza.**

Zagęszczenie desorbowanych termicznie analitów można uzyskać przez ich bezpośrednie wprowadzenie na czoło kolumny chromatograficznej, które jest utrzymywane w temperaturze pokojowej lub chłodzone za pomocą par ciekłego azotu lub ditlenku węgla. Rozdział chromatograficzny prowadzony jest następnie w programowanej temperaturze kolumny.

Termiczna desorpcja nie wymaga skomplikowanej procedury ekstrakcji, odzwierciedla rzeczywisty skład próbki, nawet lotnych składników i nie wymaga dużych ilości próby. Dużą zaletą desorpcji termicznej w połączeniu z chromatografią gazową jest brak dużego sygnału rozpuszczalnika, który może maskować obecność innych związków.

Termiczna desorpcja w połączeniu z chromatografią gazową jest stosowana do analizy lotnych związków organicznych w powietrzu atmosferycznym i w powietrzu pomieszczeń zamkniętych. Stosowana jest również jako technika izolacji różnych zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłach, jak pestycydów, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i wielu innych substancji.

7.3.8. Ekstrakcja do fazy stałej

Ekstrakcja cieczą jest łatwa, nie wymaga specjalistycznego sprzętu, ale jest czasochłonna i wymaga dużej ilości czystych rozpuszczalników. Zdecydowaną redukcję czasu analizy i objętości używanych rozpuszczalników oraz związane z tym zmniejszenie ilości szkodliwych odpadów i zwiększenie bezpieczeństwa pracy daje **ekstrakcja do fazy stałej** (ang. *solid phase extraction*, SPE). Termin ten oznacza sposób izolowania analitu w układzie ciecz lub gaz – ciało stałe i odnosi się przede wszystkim do podziału analitu między ciekłą lub gazową próbkę a stały sorbent lub adsorpcji analitu. Sorbentem o największym znaczeniu w technice SPE jest **zmodyfikowana krzemionka**. Wolne grupy silanolowe (SiOH) „czyste” krzemionki powodują adsorpcję polarnych związków z siłą utrudniającą ich odzysk, za to łatwo je podstawić odpowiednią grupą funkcyjną.

Zmodyfikowanie powierzchni żelu krzemionkowego poprzez zastąpienie wolnych grup silanolowych grupą cyjanową (CN), aminową (NH₂) czy diolową (COHCOH) powoduje zmniejszenie siły oddziaływań silnie polarnych związków z krzemionką i umożliwia ich ekstrakcję. Ten typ sorbentów nosi nazwę faz normalnych (NP). Zastąpienie grup silanolowych grupami oktylowymi (C-8), oktadecylowymi (C-18) czy alkilofenylowymi (R-C₆H₅) sprawia, że krzemionka staje się sorbentem niepolarnym i nosi nazwę faz odwróconych (RP).

W tym przypadku powstają silne, ale odwracalne oddziaływania niepolarnych lub słabo polarnych substancji ze zmodyfikowaną powierzchnią krzemionki, co umożliwia ich ekstrakcję z polarnego rozpuszczalnika.

Zasada rozdziału metodą SPE zależy głównie od natury sorbentu. Siłami warunkującymi oddziaływanie między analitem a stałym adsorbentem polarnym (np. żelem krzemionkowym, tlenkiem glinu) są wiązania wodorowe, oddziaływania dipol-dipol, dipol indukowany-dipol oraz siły dyspersyjne (van der Waalsa). Ten typ ekstrakcji oparty jest na takich samych zasadach jak chromatografia adsorpcyjna. Gdy zastosowanym sorbentem jest krzemionka z chemicznie związaną grupą polarną, np. aminową (układ faz normalnych) lub niepolarną, np. oktadecylową (układ faz odwróconych) zasada rozdziału jest taka, jak w chromatografii podziałowej. Należy pamiętać, że istnieje możliwość różnych oddziaływań między grupami funkcyjnymi analitu a powierzchnią sorbentu i mimo, że główny mechanizm rozdziału na fazach związanych jest podziałowy, w rzeczywistości przebiega w dużym stopniu przy udziale procesów adsorpcyjnych zwłaszcza, jeśli nie wszystkie grupy silanolowe zostały podstawione.

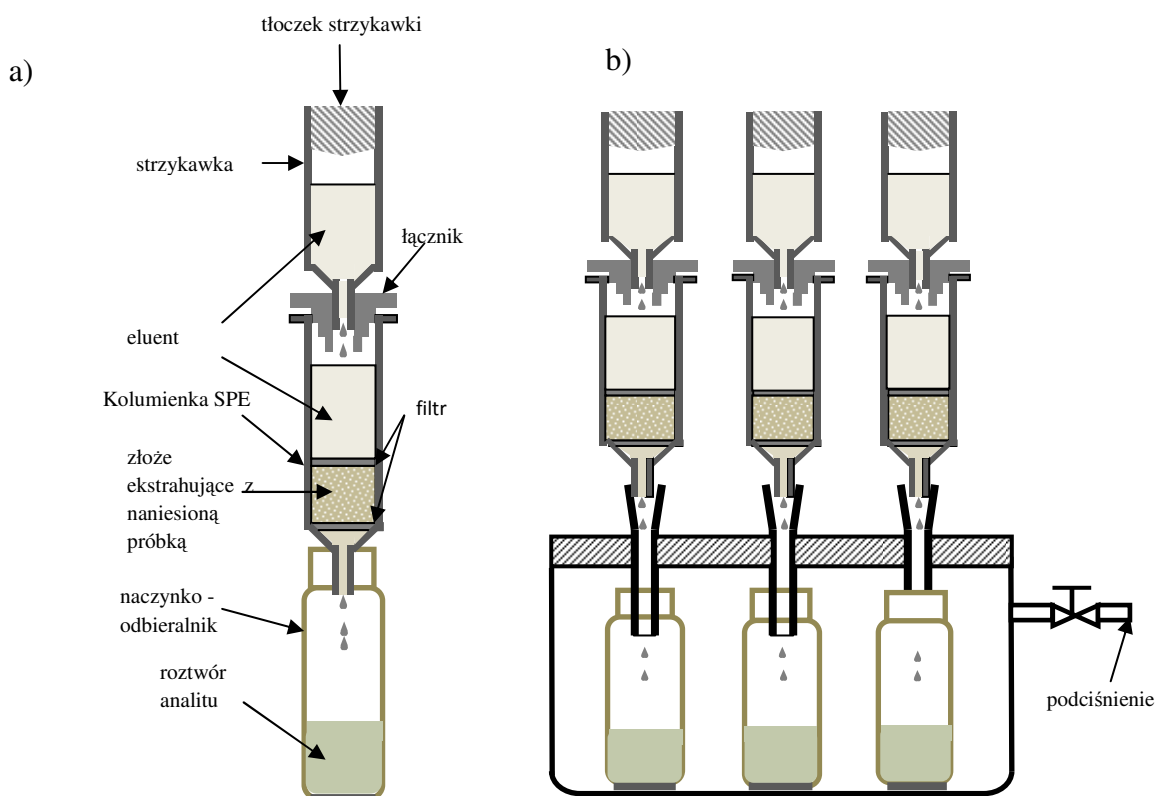
Celem rozdziału metodą SPE jest przygotowanie próbki do analizy właściwej, czyli wyizolowanie analitu z matrycy w **maksymalnie czystej i skoncentrowanej postaci**. Może być to osiągnięte na dwa sposoby: można wyeluować analit, podczas gdy zanieczyszczenia są zatrzymywane lub odwrotnie, żądany analit jest zatrzymywany na kolumnie, podczas gdy zanieczyszczenia są usuwane z kolumny. Ekstrakcja do fazy stałej zachodzi tylko wówczas, gdy wiązanie pomiędzy sorbentem a analitem jest silniejsze niż oddziaływanie wywierane przez rozpuszczalnik lub matrycę próbki.

Anality zatrzymane na złożu można odzyskiwać przez mineralizację złoża, ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi czy desorpcję termiczną. Do najczęstszych metod należy jednak ekstrakcja rozpuszczalnikami organicznymi. **W procesie wymywania eluent musi posiadać silniejsze powinowactwo do analitu niż sorbent**. Zwykle stosuje się: metanol, acetonitryl, aceton, izopropanol, dichlorometan, pentan oraz mieszaniny tych rozpuszczalników.

Należy pamiętać, że stosowane w kolumnkach SPE fazy stacjonarne wykonane na bazie materiałów krzemionkowych są stabilne w zakresie pH 2-7,5, powyżej tej wartości żel krzemionkowy może się rozpuścić a poniżej mogą ulec hydrolizie wiązania między grupami silanolowymi a podstawnikami modyfikującymi żel krzemionkowy.

Chemicznie związane fazy stacjonarne posiadają znaczną (od 1 do 5% masy sorbentu) zdolność umiarkowanie selektywnego wychwytu różnorodnych substancji, co umożliwia

zminiaturyzowanie procesu ekstrakcji. W praktyce używa się najczęściej komercyjnie przygotowane kolumnienki szklane lub polipropylenowe, zawierające od 100 mg do 2 g sorbentu stałego, zawartego między dwoma porowatymi filtrami oraz system próżniowym ze statywem na odbieralniki, manometrem kontrolnym i zaworem regulującym. Ponadto w skład systemu wchodzi złącza i zawory umożliwiające łączenie kilku kolumnienek tej samej lub różnej wielkości. Ziarna wypełnienia w kolumnienkach SPE mają średnicę 40 μm (większą niż stosowane w HPLC) a także nieregularny kształt, co umożliwia szybki przepływ fazy ruchomej. Budowa pojedynczej kolumnienki SPE oraz zestawu szeregu kolumnienek podłączonych do próżni przedstawiona jest na rysunku 48.



Rysunek 48. Budowa pojedynczej kolumnienki SPE (a) i zestawu kilku kolumnienek (b)

Elucja analitów wymaga rozpoznania pochodzenia próbki, potencjalnych substancji przeszkadzających (interferentów) i właściwości fizyko-chemicznych oznaczanych substancji. Dobór rozpuszczalnika do elucji zależy od miejsca rozpuszczalnika w szeregu eluotropowym w stosunku do analitu, rodzaju fazy stałej oraz od wymagań kolejnych etapów procedury oznaczania (np. lotność, możliwość zastosowania detektora spektrofotometrycznego UV/Vis). Ekstrakcję z wody związków niepolarnych wykonuje się, stosując niepolarną fazę, najczęściej krzemionkę zmodyfikowaną grupami oktadecylowych (C-18) lub sorbenty polimerowe o właściwościach odwróconych faz. Do elucji stosuje się takie rozpuszczalniki, jak: dichlorometan, pentan, heksan, aceton, octan etylu, acetonitryl lub ich mieszaninam. Można też wymywać substancje kolejno różnymi rozpuszczalnikami, różniącymi się siłą elucyjną - ekstrakcja sekwencyjna.

Efektywność zagęszczania metodą SPE wyraża się współczynnikiem wzbogacenia analitu k , opisanego wzorem:

$$k = V_w / V_E \quad (31)$$

gdzie:

V_w - objętość wody przepuszczona przez sorbent,

V_E - objętość eluentu użyta do wymycia analitów.

Wzrost wartości współczynnika można osiągnąć przez zwiększenie objętości wody przepuszczanej przez sorbent lub przez zmniejszenie objętości eluentu. Zmniejszenie objętości eluentu wiąże się z użyciem mniejszej ilości sorbentu. Użycie eluentu o większej sile wymywania też prowadzi do zmniejszenia jego objętości, ale może się wiązać z wymyciem interferentów. W warunkach optymalnych wartość odzysku może wynosić ok. 90%, przy współczynniku wzbogacenia 1000 dla próbek o objętości 0,5 do 1,0 dm³ wody.

Metoda ekstrakcji do fazy stałej znalazła szerokie zastosowanie, zwłaszcza do izolowania substancji organicznych z roztworów wodnych, np. do ekstrakcji WWA z wody stosowane są z powodzeniem niepolarne fazy oktadecylowe (C-18), same lub w połączeniu z polarnymi, np. aminopropylową.

Ekstrakcja do fazy stałej obejmuje kilka niezbędnych operacji. Poniżej podano sposób przygotowania kolumnienki wypełnionej niepolarną fazą oktadecylową (C-18).

Pierwszy etap to przemycie kolumnienki wraz z wypełnieniem rozpuszczalnikami mającymi wartość eluotropową większą niż stosowane eluenty. **Usuwa się w ten sposób substancje** (alkeny C₁₆-C₂₄, alkiloftalany, alkany, silanole, siloksany), **które mogą się wyekstrahować z gotowych kolumnienek**, a ilość ich zależy od producenta. Związki silanolowe są wynikiem hydrolizy wiązania między grupami silanolowymi a podstawnikami modyfikującymi krzemionkę, dlatego należy bezwzględnie unikać stosowania eluentów mogących tę hydrolizę powodować. Objętość rozpuszczalników służących do przemywania kolumnienek należy ustalić doświadczalnie, najczęściej zaleca się wstępne przemywanie rozpuszczalnikami stosowanymi do elucji w objętości 5-10 razy większej od masy wypełnienia.

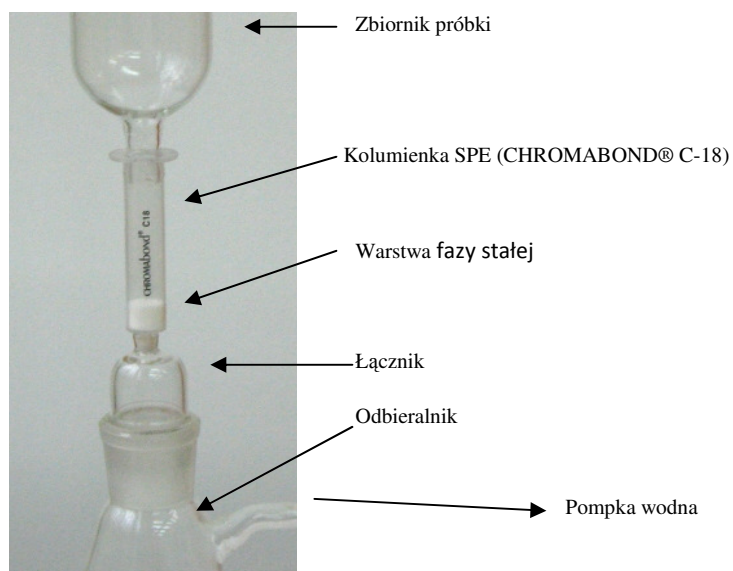
Następnym etapem jest kondycjonowanie (solwatacja) wypełnienia kolumnienki (złoża sorbentu), polegające na przygotowaniu powierzchni sorbentu do efektywnej izolacji i wzbogacania analitów z wody. Żel krzemionkowy modyfikowany fazą oktadecylową ma własności lipofilne (fazy RP nie są zwilżane wodą), dlatego złoża najpierw przemywa się metanolem lub 2-propanolem a następnie mieszaniną wody i 2-propanolu. Do kondycjonowania stosuje się zwykle 5 – 10 objętości pustych używanej kolumnienki (1 objętość pusta = 1,0 – 1,2 µl/mg sorbentu). **W trakcie kondycjonowania łańcuchy węglowodorowe ulegają wyprostowaniu, oddalając się od powierzchni sorbentu i tworząc tzw. "szczotkę" o znacznie powiększonej powierzchni aktywnej. Ważne jest użycie do kondycjonowania rozpuszczalnika o właściwościach najbardziej zbliżonych do właściwości matrycy badanej próbki (wody dejonizowanej dla próbek wodnych) oraz utrzymywanie sorbentu w pełni pokrytego rozpuszczalnikiem do momentu naniesienia próbki (zawsze pierwszą porcję rozpuszczalnika wprowadza się bez użycia podciśnienia, pozwalając jej "wsiąknąć" w złożę).**

Kolejnym etapem jest naniesienie na kolumnienkę próbki wody. Jeśli próbka zawiera zawiesinę, przed naniesieniem należy ją odwirować lub przesączyć, aby uniknąć zatkania filtra wlotowego kolumnienki. Badaną wodę nanosi się z dodatkiem 1-5% metanolu lub 5–15% 2-propanolu. **Dodatek**

alkoholu do wody badanej powoduje, że powierzchnia sorbentu jest aktywna (łańcuchy węglowodorowe wyprostowane) podczas wszystkich etapów zagęszczania (dynamiczna solwatacja), co umożliwia przepuszczenie przez kolumnę większej objętości próbki bez przekroczenia pojemności sorpcyjnej złoża (tzw. przebicia) oraz zmniejsza adsorpcję analitów na ściankach kolumny. Roztwory wodne zawierające analit przepuszcza się przez kolumnę z szybkością 1–25 cm³/min przy stosowaniu odpowiedniego podciśnienia (pompka wodna) lub nadciśnienia (sprężony gaz obojętny).

Kolejny etap obejmuje usunięcie z przestrzeni między cząstkami sorbentu oraz z wnętrza jego porów substancji niezwiązanych przez przemycie czystym rozpuszczalnikiem, w którym znajdował się analit. Można zastosować inne rozpuszczalniki, o sile eluotropowej większej, jeśli nie spowodują wymycia analitu. W ten sposób usuwa się ewentualne interferenty pochodzące z matrycy, co zwiększa czystość frakcji analizowanej. Resztki rozpuszczalnika przemywającego usuwa się przez suszenie strumieniem powietrza (zasysanym przez pompkę wodną). Czas suszenia zależy od lotności rozpuszczalnika i masy sorbentu i wynosi od 1–20 minut. W przypadku rozpuszczalników wysokowrzących (w tym wody), suszenie przy użyciu podciśnienia może być niewystarczające i powinno go poprzedzić wirowanie. **Odwirowanie rozpuszczalnika należy stosować, gdy mamy do czynienia z analitami lotnymi lub łatwo ulegającymi utlenieniu. Przy nielotnych analitach można zastosować również liofilizację.**

Mimo, że kolumny SPE nie mają dużej sprawności mierzonej ilością półek teoretycznych, ekstrakcja do fazy stałej znalazła szerokie zastosowanie do wydzielenia analitów **bezpośrednio z próbek gazowych, wodnych jak i z ekstraktów próbek stałych.** Ekstrakcja do fazy stałej jest rutynową techniką w każdym laboratorium. Na rysunku 49 przedstawiono zestaw do ekstrakcji do fazy stałej z zastosowaniem podciśnienia z pompki wodnej.



Rysunek 49. Zestaw do ekstrakcji do fazy stałej z zastosowaniem podciśnienia z pompki wodnej

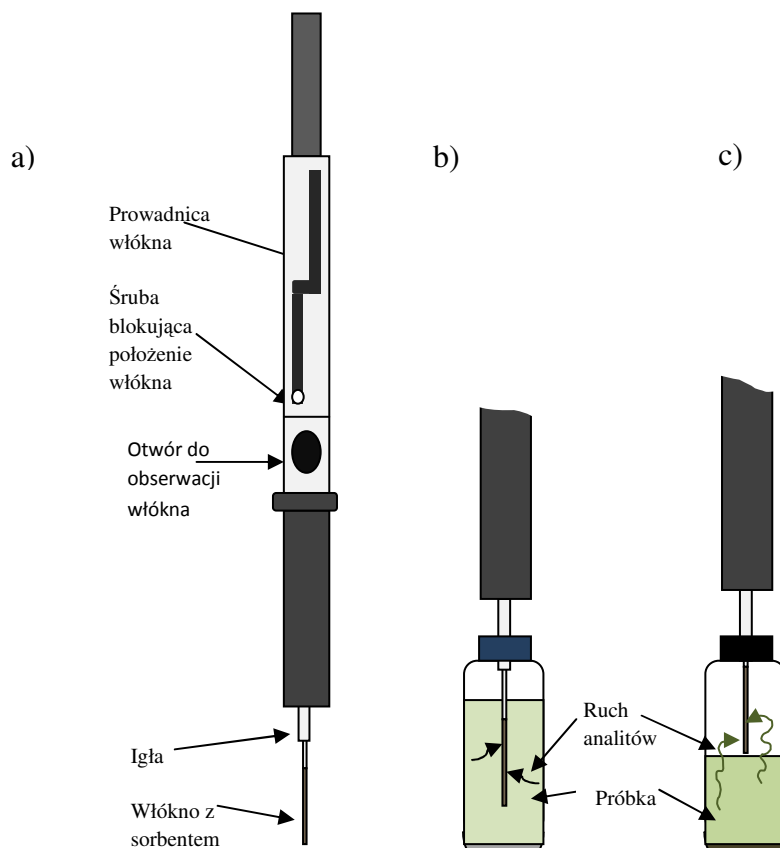
7.3.8.1. Mikroekstrakcja do fazy stałej

Rozwój techniki SPE doprowadził do miniaturyzacji procesu ekstrakcji oraz jego automatyzacji, czego przykładem jest mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. *solid phase microextraction*, SPME).

Mikroekstrakcja do fazy stałej polega na sorpcji mikroilości związków organicznych w cienkiej, cylindrycznej warstwie fazy stacjonarnej, pokrywającej włókno szklane lub kwarcowe. SPME została zastosowana po raz pierwszy na Uniwersytecie w Waterloo w Kanadzie, w 1989 roku, przez naszego rodaka Janusza Pawliszyna. Mikroekstrakcja do fazy stałej znalazła szybko szerokie zastosowanie w analityce związków organicznych z próbek gazowych, ciekłych lub ekstraktów z próbek stałych. Włókno z sorbentem znajduje się w rurce ze stali nierdzewnej, a całość mieści się w igle umocowanej w uchwycie, przypominającym strzykawkę do chromatografii gazowej, rysunek 50a. Uchwyt umożliwia dwa położenia włókna: wewnątrz i na zewnątrz rurki. W trakcie ekstrakcji włókno może być umieszczone (zanurzone) bezpośrednio w ciekłej próbce (ang. *direct immersion*, DI-SPME), lub w gazowej fazie nadpowierzchniowej nad ciekłą lub stałą próbką (ang. *head space*, HS-SPME), rysunki 50b i 50c. Po określonym czasie ekstrakcji, włókno chowane jest do igły. Ekstrakt, po zamknięciu końca igły np. uszczelką chromatograficzną, może być przechowywany na włóknie do czasu analizy. Analiza chromatograficzna ekstraktu polega na wprowadzeniu igły przyrządu do dozownika chromatografu gazowego i wysunięciu włókna z sorbentem do przestrzeni dozownika, gdzie następuje desorpcja analitów do fazy gazowej. Gaz nośny przenosi je następnie do kolumny chromatograficznej, gdzie następuje rozdział. Technika SPME nie wymaga specjalnych desorberów termicznych i można ją stosować w połączeniu z każdym chromatografem gazowym. Dla celów chromatografii cieczowej stosuje się ekstrakcję poprzez przepuszczanie próbki przez kapilarę, pokrytą od wewnątrz sorbentem. Zatrzymane na sorbencie w kapilarze anality wymywa się bezpośrednio przez fazę ruchomą do kolumny HPLC lub rozpuszczalnikiem do naczynka chromatograficznego.

Fazy stacjonarne stosowane w technice SPME mają różne właściwości chemiczne. **Sorpcja związków organicznych zależy od ich powinowactwa do zastosowanej fazy stacjonarnej.** Najpowszechniej stosowane są fazy silikonowe. Są to polisiloksany, które dzięki swym właściwościom fizyko-chemicznym, bardzo dobrze spełniają wymogi faz stacjonarnych. Polisiloksany są stabilnymi termicznie i chemicznie cieczami, posiadającymi odpowiednią lepkość, nieznacznie zmieniającą się ze zmianą temperatury.

Fazy te można modyfikować chemicznie, wprowadzając do polisiloksanów różne grupy funkcyjne i uzyskując w ten sposób różną selektywność. Struktura polisiloksanów umożliwia szybką sorpcję analitów. Przykładem fazy silikonowej jest polidimetylosiloksan (ang. *polydimethylsiloxane*, PDMS) lub mieszanina polidimetylosiloksanu i diwinylobenzenu PDMS/DVB (ang. *Divinylbenzene*, DVB). Jako fazę stałą w SPME stosuje się również poliakrylany (PA), carbowax/DVB, DVB/carboxenTM-PDMS i inne.



Rysunek 50. Schemat przyrządu do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej, SPME (a) oraz sposoby ekstrakcji: bezpośrednio w próbce, DI-SPME (b) i w fazie nadpowierzchniowej, HS-SPME (c)

Mechanizm ekstrakcji polega na **podziale** analitu między dwie fazy: matrycę (woda) i sorbent (polimer, ciecz), więc ilość analitu w sorbencie zależy w głównej mierze od wartości jego stałej podziału między dwie fazy, a to oznacza, że zawsze masa analitu znajdująca się w sorbencie ekstrahującym jest zależna od jego stężenia początkowego w próbce (technika równowagowa). Jeśli włókno znajduje się w fazie nadpowierzchniowej nad próbką, ilość analitu w fazie stacjonarnej zależy od stałej podziału między fazę stacjonarną a gazową fazę nadpowierzchniową oraz między gazową fazę nadpowierzchniową a próbką. Włókno umieszczone w fazie nadpowierzchniowej nad matrycą (próbka) będzie mniej zawierało zanieczyszczeń, niż przy zanurzeniu, dlatego technikę bezpośredniego zanurzania włókna w próbce (DI-SPME) stosuje się do próbek gazowych lub „czystych”, próbek ciekłych.

Czas ekstrakcji zależy od czasu ustalania się równowagi między próbka a fazą stacjonarną. Dyfuzję analityków z próbki do fazy stacjonarnej przyspiesza **mieszanie**. Idealne mieszanie uzyskuje się przez zastosowanie ultradźwięków. W innych przypadkach zawsze wokół włókna znajduje się cienka warstwa wody ograniczająca dyfuzję do warstwy sorbentu. Z tego powodu transport analityków w ciekłej fazie jest znacznie dłuższy niż w fazie nadpowierzchniowej. W praktyce nie ma to większego znaczenia, gdyż stan równowagi ustala się jednak szybko (warstwa sorbentu na włóknie ma małą grubość, 7–100 μm) i czas ekstrakcji jest krótki, wynosi zwykle od 2 do 30 min.

Dobór włókna z sorbentem opiera się najczęściej na zasadzie stosowanej w chromatografii - „podobne najlepiej rozpuszcza się w podobnym” i charakter sorbentu (polarność) dobierany jest do polarności analitu. Jeśli w matrycy znajdują się substancje o podobnej strukturze chemicznej do analitu, dobór selektywnego włókna jest utrudniony. W takim przypadku dobrym sposobem jest przeprowadzenie analitów w pochodne o innej strukturze chemicznej niż pozostałe składniki matrycy a tym samym o innych właściwościach fizyko-chemicznych, np. o niższej temperaturze wrzenia lub o innej polarności. Derywatyzację próbki można wykonać przed ekstrakcją lub w trakcie. Jednym ze sposobów jednoczesnej ekstrakcji i derywatyzacji jest zanurzenie włókna do odczynnika - reagenta a następnie zanurzenie do próbki lub umieszczenie w fazie gazowej nad próbką. Reakcja zachodzi na włóknie, co znacznie skraca czas analizy. Niestety, nie każdą reakcję można w ten sposób wykonać.

Dostępne komercyjnie włókna mają różne grubości warstwy sorbentu: 7, 10, 30, 50, 65, 70, 85 i 100 μm . Grube warstwy fazy odpowiednie są do większych ilości analitów, cieńsze stosowane są do mniejszych stężeń analitów. Czas dyfuzji w fazie stacjonarnej zależy od jej grubości i wielkości molekuly analitu. Włókna o większej grubości warstwy, np. 100 μm stosuje się do ekstrakcji niskomolekularnych i lotnych związków, włókna o grubości warstwy mniejszej, 30 lub 7 μm , do ekstrakcji związków o wyższych masach molekularnych i mniej lotnych. **Grubość warstwy sorbentu należy wybierać ze względu na desorpcję analitu.** Substancje o wyższych temperaturach wrzenia szybciej desorbują się z włókna o cieńszej warstwie fazy stacjonarnej.

Na wydajność ekstrakcji mają wpływ również objętości fazy gazowej i próbki, siła jonowa próbki oraz temperatura ekstrakcji.

Warunki **desorpcji** są równie ważne jak warunki ekstrakcji. Zwykle stosowana jest desorpcja termiczna i odbywa się w dozowniku chromatografu gazowego. SPME nie daje piku rozpuszczalnika w GC, ale desorpcja analitu z włókna zachodzi wolniej niż odparowanie rozpuszczalnika, czego rezultatem jest ogonienie pików, dlatego czas desorpcji powinien być możliwie najkrótszy. Temperatura dozownika powinna być wyższa niż temperatura wrzenia najwyższego składnika, ale z drugiej strony musi być dopasowana do termicznej wytrzymałości włókna. W oznaczaniu nielotnych lub nietrwałych związków, technikę SPME lepiej połączyć z techniką HPLC lub LC/MS niż z GC.

Technika SPME jest bezrozsączalnikową ekstrakcją. Różnorodność włókien dostępnych komercyjnie umożliwia wiele zastosowań. Przykłady zastosowań SPME podano w tabeli 19. SPME jest metodą przygotowania próbek analizowanych techniką chromatografii gazowej, wysokosprawnej chromatografii cieczowej lub elektroforezy. Można ją stosować do lotnych i nielotnych substancji. Zastosowanie selektywnych membran wokół włókna zwiększa selektywność ekstrakcji i może przedłużyć żywotność włókna. Szczególne zainteresowanie wzbudzają membrany węglowe.

Tabela 19. Przykłady zastosowań mikroekstrakcji do fazy stałej w analityce środowiska (Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis, W. Wardencki, J. Curyło, J. Namieśnik, *J. Biochem. Biophys. Methods* 70 (2007))

Próbka	Analit	Typ sorbentu, grubość warstwy fazy stacjonarnej [μm]	Typ ekstrakcji	Analiza właściwa
Woda	Pochodne benzenu	PDMS, 100	DI	GC/IT/MS
Woda	Pestycydy	PDMS, 7 PDMS/DVB, 65	DI	GC/NPD, GC/ECD
Woda	Lotne i semilotne związki organiczne	PDMS	HS	GC/FID, GC/MS
Gleba	Chloro organiczne pestycydy	PDMS, 100	DI	GC/ECD, GC/MS
Gleba	Fungicydy	PA, 85	DI	GC/MS
Gleba	Fosforoorganiczne pestycydy	PA, 85	HS	GC/MS
Ryby, woda rzeczna	Metylortęć	PDMS, 100	HS	GC/MS
Woda	Fosforoorganiczne pestycydy	PA, 85	DI	SFE/HPLC
Woda	Substancje wybuchowe	CW/TPR, 50 PDMS/DVB, 60 PA, 85	DI	HPLC/UV
Grunt i woda powierzchniowa	BTEX, naftalen, chlorowane alkany, chlorowane benzeny	PDMS, 100 PA, 85	HS	MCC/UV/IMS
Woda	BTEX	PDMS/DVB, 65	HS	GC/FID
Woda	N-nitrozoaminy	CAR/PDMS	HS	GC/NCD GC/NPD GC/MS
Ścieki przemysłowe	Związki siarkowe	PDMS/DVB PDMS/Carboxen	HS	GC/MS
Woda	Chlorek benzylu, dichlorek benzylu, trichlorek benzylu	Włókno z węglem aktywowanym (ACF)	HS	GC/MS
Powietrze	Chlorobenzeny	Carbowax/PDMS PDMS/DVB Carbowax /DVB	HS	GC/MS GC/ECD

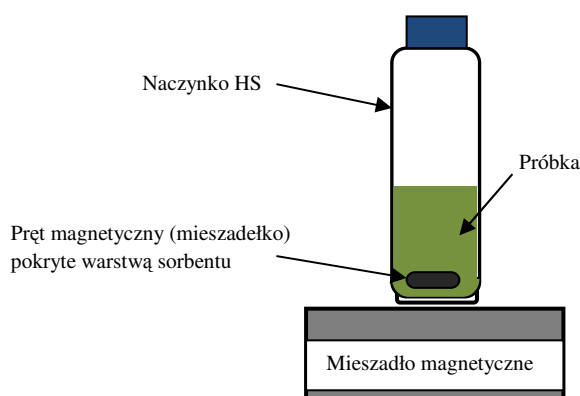
7.3.8.2. Mikroekstrakcja do fazy stałej za pomocą ruchomego elementu sorpcyjnego

Inną wersją mikroekstrakcji do fazy stałej jest ekstrakcja za pomocą ruchomego elementu sorpcyjnego (ang. *stir bar sorptive extraction*, SBSE). Obie techniki ekstrakcji, SPME i SBSE są zgodne z ideą "zielonej chemii analitycznej", gdyż minimalizują preparatykę próbek: ograniczają lub eliminują zużycie rozpuszczalników, zmniejszają objętość próbki wymaganej do analizy oraz minimalizują straty

analitów. Metoda SBSE znajduje coraz szersze zastosowanie w oznaczaniu zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych, w żywności oraz w próbkach biomedycznych. Tak duże zainteresowanie tą metodą wiąże się z wykorzystaniem polidimetylosiloksanu, jako fazy sorpcyjnej. Polidimetylosiloksan (PDMS), znany w podziałowej chromatografii gazowej, jako ciekła faza stacjonarna, jest termicznie stabilną cieczą o dużej lepkości, niemieszającą się z matrycą próbki (wodą), która może być stosowana w szerokim zakresie temperatur (do 320°C). Poza tym, PDMS wykazuje interesujące właściwości dyfuzyjne, w ekstrakcji analitu bierze udział cała objętość sorbentu a nie tylko jego powierzchnia. Ekstrakcja SBSE składa się z trzech etapów:

1. **Ekstrakcja** (zestaw do ekstrakcji za pomocą ruchomego elementu sorpcyjnego przedstawiono na rysunku 51).
2. **Usuwanie resztek matrycy** (soli, cukrów, białek i innych składników próbki) przez przemycie wodą i delikatne osuszenie.
3. **Izolacja analitu z sorbentu** poprzez desorpcję rozpuszczalnikiem lub termiczną.

Ekstrakcję wykonuje się mieszadłem magnetycznym pokrytym warstwą sorbentu. Jest to pręt magnetyczny umieszczony w szklanej osłonie, którą pokrywa sorbent. Komercyjnie dostępne są mieszadła o długości 1 cm, pokryte warstwą polidimetylosiloksanu o grubości 0,5 mm. Całkowita objętość sorbentu wynosi 24 μL . SBSE wykonuje się w naczynkach HS o pojemności 30 mL, przy objętości próbek wodnych do 20 mL. Mieszadła pokryte PDMS można stosować wielokrotnie, nawet więcej niż 50 razy (oczywiście, po analizie, należy je rekondycjonować).



Rysunek 51. Zestaw do ekstrakcji za pomocą ruchomego elementu sorpcyjnego, SBSE

Warunki ekstrakcji określa się przez dobór:

- odpowiedniego czasu,
- intensywności mieszania,
- odpowiedniej temperatury,
- odpowiedniego pH roztworu próbki,
- ilości dodawanej soli obojętnej do próbki,
- modyfikatora organicznego i jego ilości,
- objętości próbki i objętości fazy ekstrahującej.

Wydajność ekstrakcji jest tym wyższa im mniejszy jest stosunek faz wodnej do ekstrahującej, czyli im większa objętość fazy ekstrahującej. Przy standardowej objętości badanych próbek, wynoszącej 10 mL, stosunek faz w przypadku SBSE wynosi 400 (10 mL:24 μL), zaś w przypadku stosowania techniki

SPME, gdzie objętość fazy na włóknie wynosi 5 μL – stosunek faz wynosi 20000 (10 mL:5 μL). Jest to bezpośrednią przyczyną znacznie wyższego odzysku w SBSE w porównaniu do SPME.

Odzysk analitów z mieszadełka może odbywać się poprzez **desorpcję termiczną** (ang. *thermal desorption*, TD), wtedy można stosować tę ekstrakcję w połączeniu z chromatografią gazową. W desorpcji termicznej nie ma rozpuszczalnika. Mieszadełko wprowadza się do termicznego desorbera, połączonego z chromatografem gazowym. Desorpcja może trwać więcej niż 15 min. Desorber termiczny jest grzany dwuetapowo, do temperatury 150-300°C. W pierwszym etapie następuje desorpcja termiczna analitów, po czym następuje chłodzenie do temperatury 150-40°C (drugi etap), tzw. krioogniskowanie, pozwalające zminimalizować szerokość piku na chromatogramie gazowym. Ograniczeniem termicznej desorpcji jest trwałość analitu.

Anality labilne termicznie mogą być **desorbowane rozpuszczalnikiem** (ang. *liquid desorption*, LD). Desorpcję rozpuszczalnikiem stosuje się również w połączeniu z chromatografią ciekłą lub elektroforezą. Mieszadełko zanurzone jest w rozpuszczalniku lub mieszaninie rozpuszczalników, które muszą być dostosowane do właściwości sorbentu. Zwykle stosowane są acetonitryl, metanol lub ich mieszaniny oraz mieszaniny z wodą lub wodnymi buforami. Minimalna objętość rozpuszczalnika stosowanego do desorpcji musi całkowicie pokrywać mieszadełko. Desorpcję rozpuszczalnikiem można przyspieszyć mieszaniem, ogrzewaniem lub ultradźwiękami.

Handlowo dostępne mieszadełka pokryte są niepolarnym polidimetylosiloksanem, co ogranicza zastosowanie ich do ekstrakcji związków niepolarnych i małopolarnych. Sposobem, umożliwiającym ekstrakcję polarnych związków do fazy PDMS jest przeprowadzanie analitów w mniej polarne pochodne. Derywatację można przeprowadzić bezpośrednio w naczynku ekstrakcyjnym. Po dodaniu reagenta powstaje niepolarna pochodna analitu, która może być ekstrahowana przez sorbent polidimetylosiloksanowy. Reagent może też pokrywać mieszadełko, wtedy pochodna powstaje na jego powierzchni. Niestety, dużym ograniczeniem jest niemożność derywatacji przez przeprowadzanie reakcji zachodzących w bezwodnych warunkach. Istotnym problemem w ekstrakcji SBSE jest też duży wpływ matrycy. Mimo ograniczeń, metoda ta znajduje coraz szersze zastosowanie w analityce próbek środowiskowych, biologicznych, medycznych, żywności oraz pasz zwierzęcych i może być rutynową techniką ekstrakcji.

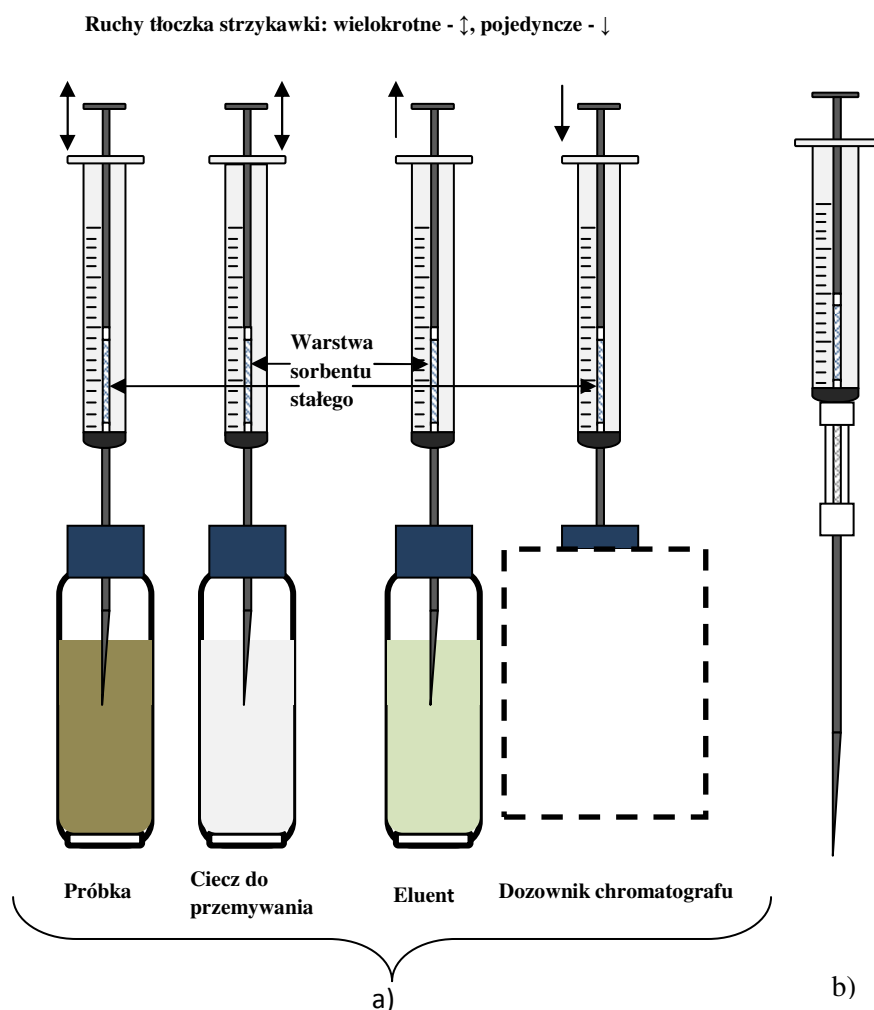
7.3.8.3. Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu w strzykawce

Do ekstrakcji w skali mikro należy **ekstrakcja do upakowanego sorbentu w strzykawce** (ang. *microextraction by packed sorbent or microextraction in packed syringe*, MEPS). Stały sorbent upakowany w strzykawce jest też nazywany krótką kolumną chromatograficzną w strzykawce. Jest to nowa technika ekstrakcji, choć oparta na starej zasadzie – jest miniaturyzacją ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu może być połączona bezpośrednio z chromatografem ciekłym lub gazowym lub jako odrębna metoda izolacji substancji. Najistotniejszą cechą tej techniki jest to, że złożo sorbentu jest integralną częścią strzykawki a nie osobną kolumną. **Wszystkie czynności, jak przemywanie, kondycjonowanie złoża, sorpcja i desorpcja wykonywane są w tym samym miejscu - w strzykawce, którą również wprowadza się próbkę do dozownika chromatografu.**

W mikroekstrakcji do fazy stałej w strzykawce stosują się te same, co w SPE sorbenty, więc standardowe fazy RPC-18, RPC-8 i inne produkowane na bazie krzemionki oraz polimery, jak polidwinylobenzen czy molekularnie drukowane polimery a także wymiennicze jonowe i immunosorbenty. Minikolumnę w strzykawce przygotowuje się w ten sposób, że do mikrostrzykawki

o pojemności 100 – 250 μL wsypuje się między dwa filtry polietylenowe sorbent stały w ilości 1-4 mg, co daje mikrolitrowe objętości kolumnienki. Do wymycia analitu z tak małej ilości złoża wystarczą mikrolitrowe objętości rozpuszczalnika, stosowne do dozowania do chromatografu. Strzykawka MEPS może być używana do ekstrakcji wiele razy, nawet powyżej stu.

Mikroekstrakcja do fazy stałej w strzykawce obejmuje podobne etapy jak w metodzie SPE. Po kondycjonowaniu kolumnienki ekstrakcję przeprowadza się następująco: 10–1000 μL ciekłej próbki przepuszcza się w strzykawce przez sorbent, naciągając płyn i wypuszczając wielokrotnie, aż wymagana ilość analitu zostanie zatrzymana na fazie stałej. Następnie fazę stałą należy przepłukać małą objętością rozpuszczalnika próbki (wody), aby usunąć niesorbujące się na fazie stacjonarnej substancje. Złoże wysuszyć, po czym małą objętością rozpuszczalnika organicznego lub fazy ruchomej eluować anality bezpośrednio do dozownika HPLC lub GC. Schemat postępowania przy wykonywaniu mikroekstrakcji w strzykawce przedstawiono na rysunku 52a. Proces mikroekstrakcji może być zautomatyzowany, poszczególne etapy ekstrakcji mogą odbywać się w automatycznym podajniku próbek (autosamplerze). Ta sama strzykawka z sorbentem może być wykorzystywana wielokrotnie, do różnych analiz, pod warunkiem, że sposób regeneracji będzie dopracowany dla każdego zastosowania odrębnie. Złoże sorbentu może być upakowane w korpusie strzykawki lub jako wkładka (nabój) między korpusem strzykawki a igłą oraz oba warianty jednocześnie (rysunek 52b).



Rysunek 52. Schemat postępowania przy wykonywaniu mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu, MEPS

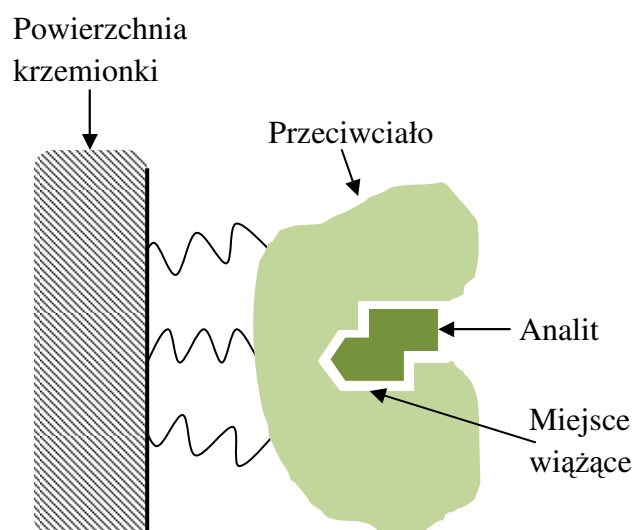
Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu w strzykawce może być stosowana do ekstrakcji szerokiego zakresu analitów. Połączenie techniki MEPS z wysokosprawną chromatografią cieczą i spektrometrią mas jest narzędziem do oznaczania w płynach ustrojowych (osocze, krew, mocz) leków i ich metabolitów takich, jak: środki znieczulające, β -blokery, leki przeciwrakowe, antydepresanty oraz związków toksycznych - narkotyków i ich metabolitów, amfetaminy we włosach, monoterpenujących metabolitów w moczu i in. Technikę tę zastosowano również do ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w wodzie, ochratoxyny A (mykotoxyna kancerogenna) w winie, trichloroanizolu (substancja o stęchłym, mulistym zapachu) w winie. Strzykawki z upakowanym sorbentem są dostępne komercyjnie.

7.3.8.4. Ekstrakcja przez wykluczenie na sorbentach immunologicznych

Ekstrakcja do fazy stałej może się odbywać na bardzo selektywnych sorbentach, jakimi są **przeciwciała lub molekularnie imprintowane polimery**. Najbardziej selektywnymi sorbentami, stosowanymi do ekstrakcji do fazy stacjonarnej i redukującymi wpływ matrycy są sorbenty immunologiczne, a proces izolacji nazywa się **ekstrakcją przez wykluczenie na sorbentach immunologicznych**.

Sorbent immunologiczny umożliwia izolację, oczyszczanie i zagęszczanie analitu w jednej operacji. Mechanizm ekstrakcji polega na rozpoznaniu molekuly analitu przez przeciwciało (na zasadzie oddziaływania antygen-przeciwciało).

Odpowiednie przeciwciała (jednego rodzaju lub różne), po unieruchomieniu wiązaniami kowalencyjnymi z powierzchnią nośnika, np. krzemionki (rysunek 53) tworzą immunosorbent, który może być przewidziany do ekstrakcji pojedynczego analitu, pojedynczego analitu i jego metabolitów oraz klasy strukturalnie podobnych analitów. Szczególnie wydajną, przy zastosowaniu immunosorbentów, jest ekstrakcja analitów z próbek biologicznych i środowiskowych.



Rysunek 53. Schemat budowy i działania immunosorbentu, IS

W analizach zanieczyszczeń środowiska, immunosorbenty zastosowano do wykrywania np. pochodnych triazyn (herbicydy), wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA),

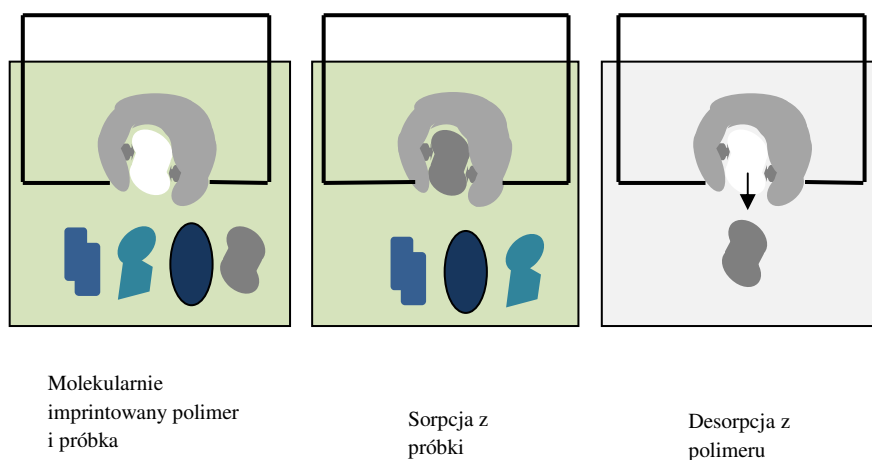
pochodnych fenylomocznika (herbicydy), benzydyny, barwników azowych, aflatoksyn, ochratoksyn, leków weterynaryjnych, węglowodorów aromatycznych BTEX, kortykosteroidów i in.

Immunosorbenty stosowane są w postaci wypełnienia kolumniek SPE lub w postaci wymiennego naboju. Wysokie powinowactwo przeciwciała do analitu zapewnia bardzo wysoką selektywność, więc nie ma problemu z interferującymi substancjami z matrycy.

7.3.8.5. Ekstrakcja za pomocą polimerów z nadrukiem molekularnym

Zasada rozpoznawania cząsteczek przez receptory, enzymy czy przeciwciała została zastosowana w **ekstrakcji za pomocą polimerów z nadrukiem molekularnym** (ang. *molecularly imprinted polymers*, MIP), zwanych też **molekularnie imprintowanymi polimerami**. W imprintowanym polimerze znajdują się trójwymiarowe miejsca wychwyty (wnęki), odpowiadające wymiarom i charakterowi chemicznemu cząsteczki analitu. Mechanizm ekstrakcji oparty jest na efekcie wykluczania, wynikającego z różnic w wielkości i kształcie cząsteczek oraz charakteru związku i wynikających z niego sposobów oddziaływań z polimerem (wiązania wodorowe, oddziaływania dipol-dipol, tworzenie par jonowych itp.).

Aby otrzymać polimer zdolny wychwycić cząsteczki analitu należy właściwie dobrać monomer funkcyjny oraz poszczególną substancję wzorcową (analit) lub substancję, będącą analogiem strukturalnym analitu lub grupy analitów. Monomer funkcyjny jest to substancja zdolna do polimeryzacji, najczęściej posiadająca sprzężone podwójne wiązania. Monomer funkcyjny musi też posiadać odpowiednie grupy funkcyjne, dobrane do grup obecnych w cząsteczce analitu tak, aby mogło zachodzić wiązanie kowalencyjne lub inne oddziaływania między monomerem a analitem, np. elektrostatyczne, wodorowe czy hydrofobowe (od ich rodzaju zależą techniki modelowania polimeru). W wyniku tych oddziaływań, substancja wzorcowca i monomer rozpuszczone w wybranym rozpuszczalniku, tworzą trwałą strukturę, zwaną kompleksem prepolimeryzacyjnym. Po dodaniu odczynnika sieciującego zachodzi właściwa polimeryzacja, utrwalająca strukturę prepolimeru. Po usunięciu z polimeru substancji wzorcowej, powstaje miejsce zdolne wychwytywać selektywnie cząsteczki analitu z mieszaniny wieloskładnikowej. Molekularnie imprintowany polimer jest stabilny chemicznie i fizycznie i można go stosować wielokrotnie. Schemat ekstrakcji przedstawiony jest na rysunku 54.



Rysunek 54. Schemat ekstrakcji za pomocą molekularnie imprintowanego polimeru

Wśród często stosowanych monomerów funkcyjnych znajdują się monomery kwaśne, jak kwas akrylowy, kwas metakrylowy, kwas 4-winylobenzoowy, monomery zasadowe, jak winylopirydyna, winyloimidazol, alliloamina oraz monomery obojętne, jak styren, akrylonitryl, metakrylan metylu i akryloamid. Dobór rozpuszczalnika zależy od stosowanych monomerów i substancji oznaczanej, najczęściej używane są toluen, acetonitryl, chloroform czy metanol. Molekularnie imprintowane polimery są stosowane w wielu dziedzinach, ale najszersze zastosowanie znalazły w izolacji i zagęszczaniu substancji. W technice SPE stanowią fazę stacjonarną do izolowania substancji czynnych z materiału biologicznego, jak np. antybiotyków czy β -blokerów z moczu, krwi, osocza oraz tkanek, jak wątroby, nerek i mięśni oraz do izolowania i oznaczania substancji toksycznych lub szkodliwych w próbkach środowiskowych: wodzie, glebie, żywności i paszach. Handlowo dostępne są polimery imprintowane do oznaczania: β -blokerów, β -receptorów, antybiotyku Chloramphenicol, ryboflawiny (wit. B2), herbicydów triazynowych i in.

7.3.8.6. Ekstrakcja z ograniczonym dostępem do fazy stacjonarnej

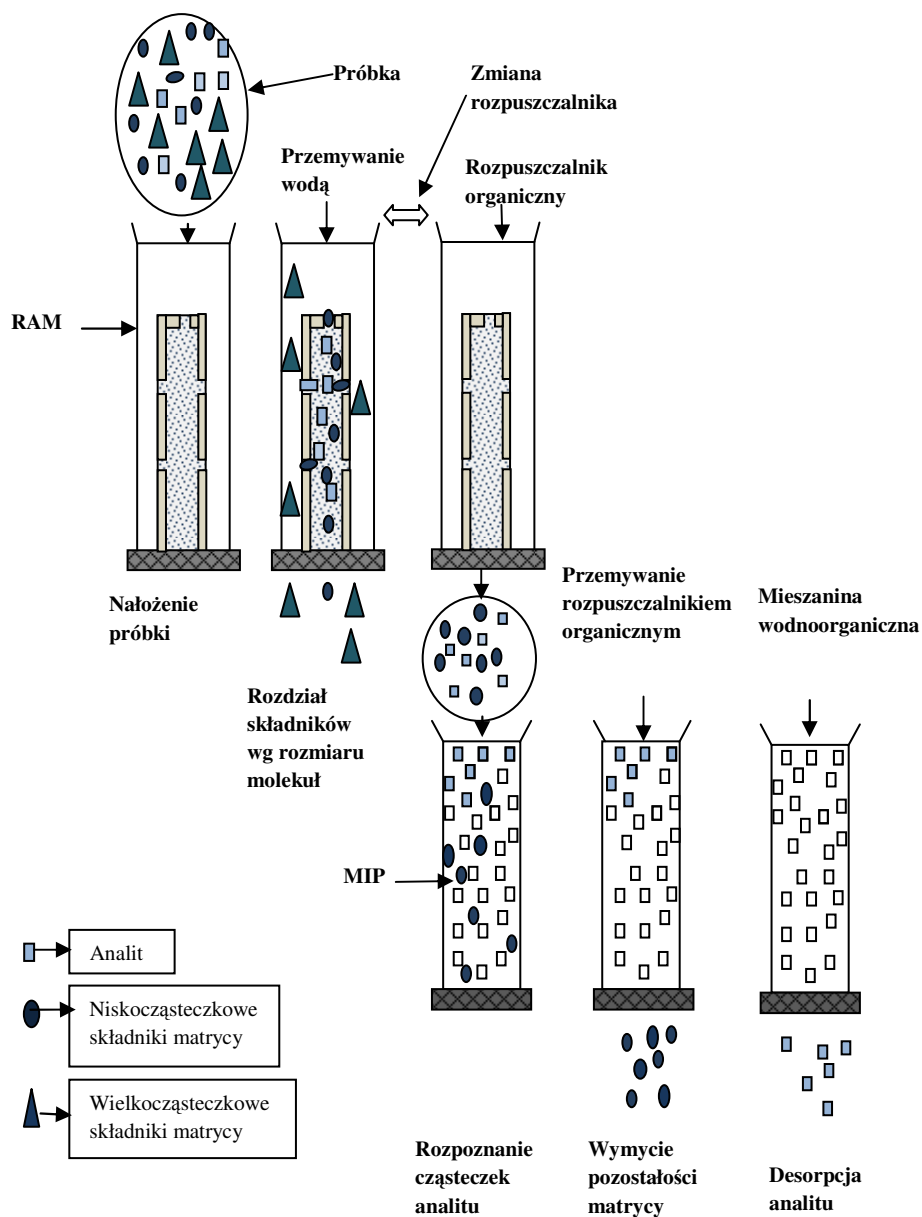
Ekstrakcja do fazy stałej może odbywać się jednocześnie wg dwóch różnych mechanizmów rozdziału - **mechanizmu wykluczania i mechanizmu podziałowego**. Tak się dzieje w przypadku stosowania kolumnienek z wypełnieniem typu **RAM** (ang. *restricted access material* lub *restricted access media*).

Metodę można nazwać **ekstrakcją z ograniczonym dostępem do fazy stacjonarnej**. Ograniczenie powoduje zewnętrzna, stykająca się z matrycą, powierzchnia fazy stacjonarnej, której właściwości fizyczne lub/i chemiczne uniemożliwiają sorpcję cząsteczek o dużych rozmiarach, takich jak białka, kwasy nukleinowe czy polimery.

Substancje niskocząsteczkowe mogą penetrować małe pory sorbentu i ulegać ekstrakcji przez podział do wnętrza fazy stacjonarnej, która ma najczęściej charakter odwróconych faz (niepolarny). Fazy stałe RAM, ze względu na mechanizm wykluczania makromolekuł, dzieli się na dwie grupy. **W pierwszej grupie wykluczanie odbywa się z powodu fizycznej bariery**, jaką jest wielkość porów powierzchni fazy stałej, a ekstrakcja analitów zachodzi wewnątrz porów. Sorbenty w tej grupie mogą mieć różny charakter, zależny od właściwości analitu, np. fazy odwrócone, jak krzemionka modyfikowana gliceryną i łańcuchami węglowodorowymi C4, C8 lub C18, znana pod nazwą ADS (ang. alkil-diol-silica) oraz fazy z porowatą krzemionką z różnymi ligandami. **W drugiej grupie, wykluczanie odbywa się z powodu chemicznej bariery**, oprócz odpowiedniej wielkości porów, zewnętrzna warstwa sorbentu stanowi półprzepuszczalną powierzchnię, krzemionkę pokrytą białkami albo fazy z mieszanymi funkcjami lub osłoną hydrofobową. Są również stosowane w technice RAM fazy stałe o specyficznych właściwościach, np. umożliwiające rozdział enancjomerów lub rozdział o mechanizmie jonowymiennym, np. kationit. Struktura zewnętrznej warstwy sorbentu umożliwia desorpcję makromolekuł i stosowanie sorbentu wielokrotnie. Wewnętrzną warstwę sorbentu także najczęściej stanowi sorbent o charakterze odwróconych faz, typu ADS, na którym sorpcja zachodzi głównie na skutek oddziaływań Van der Waals'a.

Technika z zastosowaniem RAM wykorzystywana jest przede wszystkim w analizach biologicznych, ale również w analizach próbek środowiskowych, np. do oznaczania herbicydów.

Nowym kierunkiem w ekstrakcji do fazy stałej jest wykorzystanie sorbentów stosowanych w RAM w połączeniu z molekularnie imprintowanymi polimerami (RAM-MIP). Schemat analizy wykorzystanej do izolacji triazynowych herbicydów pokazano na rysunku 55.



Rysunek 55. Schemat procedury rozdzielczej za pomocą połączonych technik RAM-MIP. U góry, po lewej stronie schemat rozdzielczy na kolumnie RAM, po prawej u dołu schemat procedury na kolumnie MIP (wg Guiochon G., Beaver L., A., Progress and future of instrumental analytical chemistry applied to the environment, *Analytica Chimica Acta*, 523,1-14, 2004)

Procedura izolacji składa się z dwóch etapów:

- usunięciu z próbki wielkocząsteczkowych zanieczyszczeń,
- wyizolowanie czystego analitu z wstępnie oczyszczonej próbki.

W pierwszym etapie, po załadowaniu próbki na kolumnę następuje odmycie wodą (roztworem wodnym) zanieczyszczeń wielkocząsteczkowych, nieprzechodzących przez małe pory wierzchniej warstwy sorbentu. Analit i inne zanieczyszczenia zostają na wewnętrznej warstwie sorbentu. Następnie, zmieniając

rozpuszczalnik na organiczny, wymywa się związki z sorbentu. Wstępnie oczyszczoną próbkę nanosi się na kolumnkę, w której sorbentem jest polimer imprintowany cząsteczkami triazyny. Cząsteczki triazynowego herbicydu pozostają w aktywnych wnękach polimeru, a pozostałe składniki są usuwane wraz z rozpuszczalnikiem. Następnie, stosując mieszaninę wodno-organiczną o określonym pH, wymywa się czysty analit. Taka technika jest bardzo selektywna i pozwala unikać niekorzystnych interakcji w czasie analizy i może znaleźć szerokie zastosowanie w analizie medycznej.

8. Literatura

1. Jones, A., Duck, R., Reed, R., Weyers, J. *Nauki o środowisku. Ćwiczenia praktyczne*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2002.
2. Kocjan, R. (red.) *Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL: Warszawa, 2000; Tom 2.
3. Kośmider, J.; Mazur-Chrzanowska, B.; Wyszyński, B. *Odory*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2002.
4. Mitra, S. (red.) *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*; John Wiley & Sons Inc.: New York, 2003.
5. Molenda, J.; Steczko, K. *Ochrona środowiska w gazownictwie i wykorzystaniu gazu*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2000.
6. Namieśnik, J. (red.) *Metody instrumentalne w kontroli zanieczyszczeń środowiska*; Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej: Gdańsk, 1992.
7. Namieśnik, J.; Jamrógiewicz, Z. (red.) *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1998.
8. Namieśnik, J.; Jamrógiewicz, Z.; Pilarczyk, M.; Torres, L. *Przygotowanie próbek środowiskowych do analizy*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2000.
9. Namieśnik, J., Łukasiak, J., Jamrógiewicz, Z. *Pobieranie próbek środowiskowych do analizy*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1995.
10. Paderewski, M. L. *Procesy adsorpcyjne w inżynierii chemicznej*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1999.
11. Popek, E. P., *Sampling and analysis of environmental chemical pollutants*; Academic Press: California, USA, 2003.
12. Szczepaniak, W. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1996.
13. Abdel-Rehim, M. J. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 2569-2580.
14. Babic, S.; Petrovic, M.; Kastelan-Macan, M. *J. Chromatogr. A* **1998**, 823, 3-9.
15. Beyer, A.; Biziuk, M. *Ecol. Chem. Eng. S* **2007**, 14, 291-313.
16. Clement, M.; Arzel, S.; Le Bot, B.; Seux, R.; Millet, M. *Chemosphere* **2000**, 40, 49-56.
17. Curyło, J.; Wardencki, W.; Namieśnik, J. *Pol. J. Environ. Stud.* **2007**, 16, 5-16.
18. Dąbrowska, H.; Dąbrowski, Ł.; Biziuk, M.; Gaca, J.; Namieśnik, J. *J. Chromatogr. A* **2003**, 1003, 29-42.
19. Deng, C.; Yao, N.; Wang, B.; Zhang, X. *J. Chromatogr. A* **2006**, 1103, 15-21.
20. Dziadek, K.; Waclawek, W. *Chemia, Dydaktyka, Ekologia i Metrologia* **2005**, 10, 33-37.
21. Guan, W.; Wang, Y.; Xu, F.; Guan, Y. *J. Chromatogr. A* **2008**, 1177, 28-35.
22. Guiochon, G. A.; Beaver, L. A. *Anal. Chim. Acta* **2004**, 523, 1-14.
23. Hennion, M.-C. *J. Chromatogr. A* **1999**, 856, 3-54.
24. Hu, Y.; Zheng, Y.; Zhu, F.; Li, G. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1148, 16-22.

25. Huie, C. W. *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, 373, 23–30.
26. Jeannot, M. A.; Cantwell, F. F. *Anal. Chem.* **1997**, 69, 235–239.
27. Jonsson, S.; Hagberg, J.; Bavel B. J. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 4962–4967.
28. Klein, D. R.; Flannelly, D.F.; Schultz, M. M. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 1742–1747.
29. Kloskowski, A.; Pilarczyk, M.; Namieśnik J. *Anal. Chem.* **2009**, 81, 7363–7367.
30. Koning, S.; Janssen, H. G.; Brinkman, U. A. Th. *Chromatographia* **2009**, 69, Supplement 1, 33–78.
31. Kosikowska, M.; Biziuk, M. *Ecol. Chem. Eng. S* **2009**, 16, 207–220.
32. Kot, A.; Namieśnik, J. *Trends Anal. Chem.* **2000**, 19, 69–79.
33. Kotowski, W. *Ecol. Chem. Eng. S* **2008**, 15, 43–60.
34. Lee, S. C.; Zou, S. C.; Ho, K. F.; Chan L. Y. *Fresenius J. Anal. Chem.* **2001**, 369, 166–169.
35. Liang, P.; Liu, R.; Cao J. *Microchim. Acta* **2008**, 160, 135–139.
36. Lopez, P.; Sanchez, C.; Batlle, R.; Nerian, C. J. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 4348–4356.
37. Luque de Castro, M. D.; Priego-Capote, F. J. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 2383–2389.
38. Maltez, H. F.; Borges, D. L. G.; Carasek, E.; Welz, B.; Curtius, A. J. *Talanta* **2008**, 74, 800–805.
39. Morozova, V. S.; Eremin, S. A.; Nesterenko, P. N.; Klyuev, N. A.; Shelpchikov, A. A.; Kubrakova, I.V. *J. Anal. Chem.* **2008**, 63, 127–134.
40. Nováková, L.; Vlčková, H. *Anal. Chim. Acta* **2009**, 656, 8–35.
41. Onuska, F. I.; Terry, K.A. *Chromatographia* **1993**, 36, 191–194.
42. Prieto, A.; Basauri, O.; Rodin, R.; Usobiaga, A.; Fernández, L. A.; Etxebarria, N.; Zuloaga, O. J. *Chromatogr. A* **2010**, 1217, 2642–2666.
43. Przyjazny, A.; Kokosa, J. M. *J. Chromatogr. A* **2002**, 977, 143–153.
44. Raynie, D. E. *Anal. Chem.* 2006, 78, 3997–4003.
45. See, H. H.; Sanagi, M. M.; Ibrahim, W.; Naim, A. A. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 1767–1772.
46. Shariati-Feizabadi, S.; Yamini, Y.; Bahramifar, N. *Anal. Chim. Acta* **2003**, 489, 21–31.
47. Smith, R. M. *J. Chromatogr. A* **2003**, 1000, 3–27.
48. Souza Pinheiro, A.; Andrade, J. B. *Talanta* **2009**, 79, 1354–1359.
49. Stasiak, D. M. *Acta Sci. Pol.* **2005**, 4, 31–39.
50. Wardencki, W.; Curyło, J.; Namieśnik, J. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2007**, 70, 275–288.
51. Waterman, D.; Horsfield, B.; Leistner, F.; Hall, K.; Smith, S. *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3563–3567.
52. Xu, H.; Pan, W.; Song, D.; Yang, G. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 9351–9356.
53. Yang, T-J.; Tsai, F-J.; Chen, C-Y.; Yang, T. C-C.; Lee, M-R. *Anal. Chim. Acta* **2010**, 668, 188–194.
54. Yoshimura, Y.; Izumi, S.; Makino, T.; Nakazawa, H. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1046, 83–88.
55. Zougagh, M.; Valcarcel, M.; Rios, A. *Trends Anal. Chem.* **2004**, 23, 399 – 405.
56. US EPA Method 3546.
57. US EPA Method 3545A.
58. Luliński P., Cieślak A., Maciejewska D., Synteza polimerów imprintowanych dopaminą i teoretyczna analiza oddziaływań międzycząsteczkowych w kompleksie prepolimeryzacyjnym, www.farm.amwaw.edu.pl/~axzimni/biuletyn/
59. Namieśnik, J. *Materiały z Konferencji Zielona Chemia Analityczna*, Ślesin, 11-13.05.2009, www.sge.com.pl/sympozyja/pdfy/slesin2009_namiesnik.pdf
60. eko.ch.pw.edu.pl/kons/aimzs.doc
61. home.agh.edu.pl/~kca/ZOD%20Boleslawiec-cz1.ppt
62. www.zn.sgsp.edu.pl/37/4.pdf
63. www.ujk.edu.pl/ios/wydawnictwa/z9/Ryszard%20Swietlik.pdf

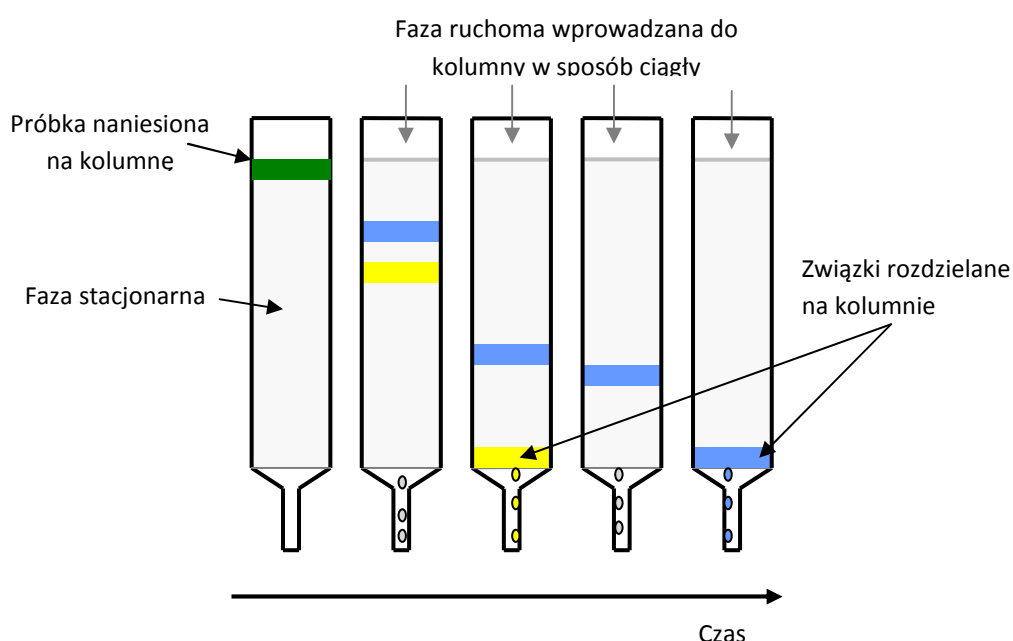
V. Chromatograficzne metody analityczne

1. Wprowadzenie do metod chromatograficznych

1.1. Wstęp

Chromatografia jest obecnie najbardziej rozpowszechnioną i jednocześnie najbardziej wszechstronną techniką instrumentalną dostępną w nowoczesnych laboratoriach. Umożliwia zarówno analizę jakościową jak i analizę ilościową. Próbkę mogą być gazowe, ciekłe lub stałe, zaś sam proces chromatograficzny może być prowadzony albo przy użyciu kosztownych instrumentów albo powszechnie dostępnego sprzętu laboratoryjnego.

Chromatografia jest oparta na systemie dwóch niemieszających się faz: fazy stacjonarnej (nieruchomej) oraz fazy ruchomej, która porusza się wzdłuż fazy stacjonarnej. Próbka jest wprowadzana do kolumny w postaci wąskiego pasma, co znaczy, że ma niewielką objętość (rysunek 1).

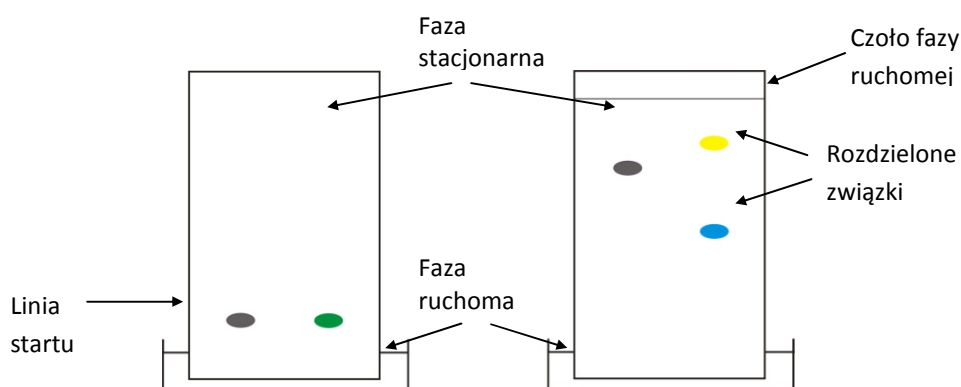


Rysunek 1. Chromatografia kolumnowa

Składniki próbki są separowane dzięki temu, iż w różny sposób dzielą się pomiędzy obie fazy i tym samym przemieszczają się wraz z fazą ruchomą z różną prędkością. Kinetyczny ruch cząsteczek powoduje ciągłą wymianę składników próbki pomiędzy obydwoma fazami. Jednocześnie faza ruchoma porusza się wzdłuż fazy stacjonarnej zaś cząsteczki, które są w danym momencie rozpuszczone w fazie ruchomej poruszają się wraz z nią, natomiast te cząsteczki, które są w danym momencie zatrzymane przez fazę stacjonarną, nie przemieszczają się wzdłuż kolumny. Składniki próbki, które wykazują większe powinowactwo do fazy ruchomej poruszają się znacznie szybciej niż składniki, które wykazują większe powinowactwo do fazy stacjonarnej, i tym samym te pierwsze wcześniej opuszczają kolumnę chromatograficzną. **Tak, więc separacja składników próbki jest spowodowana różnymi szybkościami migracji poszczególnych składników próbki.** Powodem różnej prędkości migracji a tym samym różnego czasu opuszczania kolumny chromatograficznej przez składniki do niej wprowadzone są **oddziaływania międzycząsteczkowe**. Zachodzą one **między cząsteczkami próbki a cząsteczkami fazy stacjonarnej i fazy ruchomej** a należą do nich siły

dyspersyjne, polarne (oddziaływania dipol-dipol, oddziaływania π - π , wiązania wodorowe) oraz jonowe. Oddziaływania te powodują, że składniki mieszaniny są w różnym stopniu zatrzymywane przez fazę stacjonarną. **Oczywiście silniejsze oddziaływanie z fazą stacjonarną powoduje większą retencję danego składnika próbki i tym samym późniejsze opuszczenie kolumny.**

Proces chromatograficzny można prowadzić w **kolumnach chromatograficznych** (rysunek 1) bądź **techniką planarną** (rysunek 2). Najprostsza **chromatografia kolumnowa** wymaga jedynie szklanej rurki zakończonej zaworem, czyli kolumny. Szklana kolumna jest napełniona fazą stacjonarną, przez którą przepływa faza ruchoma. Badaną mieszaninę (próbkę) wprowadza się na początek (czoło) złoża fazy stacjonarnej i następnie przepuszcza się fazę ruchomą przez kolumnę. Przepuszczanie fazy ruchomej przez kolumnę nazywa się **elucją (wymywaniem)**, gdyż w tym czasie następuje separacja składników próbki, które kolejno opuszczają kolumnę, czyli **eluują** z kolumny.



Rysunek 2. Chromatografia cienkowarstwowa, płytka przygotowana do rozdzielenia z naniesionymi plamkami badanych próbek (po lewej), płytka po wykonaniu rozdzielenia (po prawej)

Technika planarna polega na wykonaniu procesu chromatograficznego na bibule lub na cienkich warstwach fazy stacjonarnej osadzonych na podłożu z płytek szklanych, folii aluminiowej lub polimerach (**chromatografia cienkowarstwowa**) (rysunek 2). Główną różnicą pomiędzy chromatografią kolumnową a chromatografią cienkowarstwową jest kształt fazy stacjonarnej, czyli kształt złoża chromatograficznego. W chromatografii cienkowarstwowej faza ruchoma porusza się w górę płytki chromatograficznej dzięki działaniu sił kapilarnych.

1.2. Podział metod chromatograficznych

Techniki chromatograficzne dzieli się według następujących kryteriów:

- **stanu skupienia fazy ruchomej,**
- **mechanizmu rozdzielania,**
- **sposobu prowadzenia procesu chromatograficznego.**

Ze względu na **stan skupienia fazy ruchomej** wyróżnia się następujące rodzaje chromatografii:

- **chromatografia gazowa (GC)** – technika rozdzielania, gdzie fazą ruchomą jest gaz. W chromatografii gazowej zawsze stosuje się kolumny chromatograficzne;
- **chromatografia cieczowa (LC)** – technika rozdzielania, gdzie fazą ruchomą jest ciecz. W chromatografii cieczowej proces rozdzielania można prowadzić w kolumnach (chromatografia

niskociśnieniowa lub wysokosprawna chromatografia cieczowa, HPLC) bądź techniką planarną;

- **chromatografia z fazą ruchomą w stanie nadkrytycznym (SFC)** – technika rozdzielania, w której faza ruchoma jest płynem powyżej jego krytycznej temperatury i krytycznego ciśnienia. Stosuje się również terminy: chromatografia fluidalna czy chromatografia nadkrytyczna.

Ze względu na **mechanizm rozdzielania** wyróżnia się następujące rodzaje chromatografii:

- **chromatografia adsorpcyjna** – rozdzielanie jest wynikiem różnic pomiędzy składnikami próbki w zdolności do adsorbowania się na powierzchni ciała stałego (adsorbentu);
- **chromatografia podziałowa** – rozdzielanie jest wynikiem różnej rozpuszczalności składników próbki w fazie stacjonarnej (w przypadku chromatografii gazowej) lub różnej rozpuszczalności składników w fazie stacjonarnej i ruchomej (w przypadku chromatografii cieczowej);
- **chromatografia jonowa (jonowymienna)** – technika, w której rozdzielanie jest wynikiem różnej zdolności składników próbki do ulegania wymianie jonowej;
- **chromatografia wykluczania** – technika, w której o rozdzieleniu składników próbki decydują różnice w wielkościach cząsteczek i/lub w ich kształcie. W przeszłości stosowane były również nazwy: chromatografia żelowa, sączenie molekularne, chromatografia sitowa;
- **chromatografia powinowactwa** - technika, w której rozdzielanie jest wynikiem biologicznej specyficzności oddziaływań składników próbki i ligandu. Ten rodzaj chromatografii jest stosowany do izolacji i oczyszczania białek oraz kwasów nukleinowych.

Ze względu na **sposób prowadzenia procesu chromatograficznego** wyróżniamy **chromatografię kolumnową** (rysunek 1) oraz **chromatografię cienkowarstwową** (rysunek 2).

1.3. Podstawowe pojęcia stosowane w chromatografii

Poniżej przedstawiono podstawowe pojęcia i definicje wybrane z nomenklatury chromatograficznej [Witkiewicz *et al.*, *Nomenklatura chromatograficzna*, 1996].

Chromatografia jest fizyczną metodą rozdzielania, w której składniki rozdzielane ulegają podziałowi pomiędzy dwie fazy; jedna z nich jest nieruchoma (faza stacjonarna), a druga (faza ruchoma) porusza się w określonym kierunku.

Faza stacjonarna – jedna z dwóch faz tworzących układ chromatograficzny. Określana jest też terminem **złożenie chromatograficzne**. Faza stacjonarna może być stała lub ciekła. Jeżeli faza stacjonarna jest cieczą, to może być albo związana chemicznie z ciałem stałym (nośnikiem) albo unieruchomiona na nim fizycznie.

Faza ruchoma – płyn, który przemieszcza się przez nieruchomą fazę stacjonarną albo wzdłuż niej w określonym kierunku. W chromatografii gazowej stosuje się termin **gaz nośny** natomiast w chromatografii cieczowej stosuje się termin **eluent** dla określenia fazy ruchomej.

Chromatografia w odwróconym układzie faz – rodzaj chromatografii cieczowej, w której faza ruchoma jest znacznie bardziej polarna niż faza stacjonarna.

Chromatografia w normalnym układzie faz – rodzaj chromatografii cieczowej, w której faza ruchoma jest mniej polarna niż faza stacjonarna.

Elucja izokratyczna – rodzaj elucji, podczas którego skład jakościowy i ilościowy fazy ruchomej pozostaje stały.

Elucja gradientowa – rodzaj elucji, w którym skład fazy ruchomej zmienia się w sposób ciągły lub stopniowo.

Kolumna – rurka ze znajdującą się w niej fazą stacjonarną, przez którą przepływa faza ruchoma (eluent). Faza ruchoma wraz z rozpuszczonymi w niej składnikami próbki, opuszczająca kolumnę nazywa się **eluatem**.

Chromatograf jest to przyrząd lub zestaw przyrządów służący do wykonania rozdzielania chromatograficznego. Najważniejsze części chromatografu to **dozownik, kolumna chromatograficzna oraz detektor**.

Dozownik – urządzenie, za którego pomocą wprowadza się próbkę do fazy ruchomej przed złożem chromatograficznym lub na to złożo.

Detektor – urządzenie, które określa zmiany w składzie fazy ruchomej przepływającej przez niego, poprzez pomiar jej właściwości fizycznych lub chemicznych. Innymi słowy jest to urządzenie, które monitoruje w sposób ciągły skład fazy ruchomej opuszczającej kolumnę. Z chwilą pojawienia się substancji w detektorze, pojawia się **sygnał chromatograficzny (pik)**, obrazujący zmiany stężenia w czasie lub zmiany stężenia wraz ze zmianą objętości fazy ruchomej wypływającej z kolumny. Sygnały chromatograficzne zapisywane przez rejestrator (komputer) dają chromatogram.

Chromatogram - wynik analizy chromatograficznej; jest to wykres przedstawiający zmiany stężenia w fazie ruchomej substancji rozdzielanych w czasie lub zmiany stężenia wraz ze zmianą objętości fazy ruchomej wypływającej z kolumny.

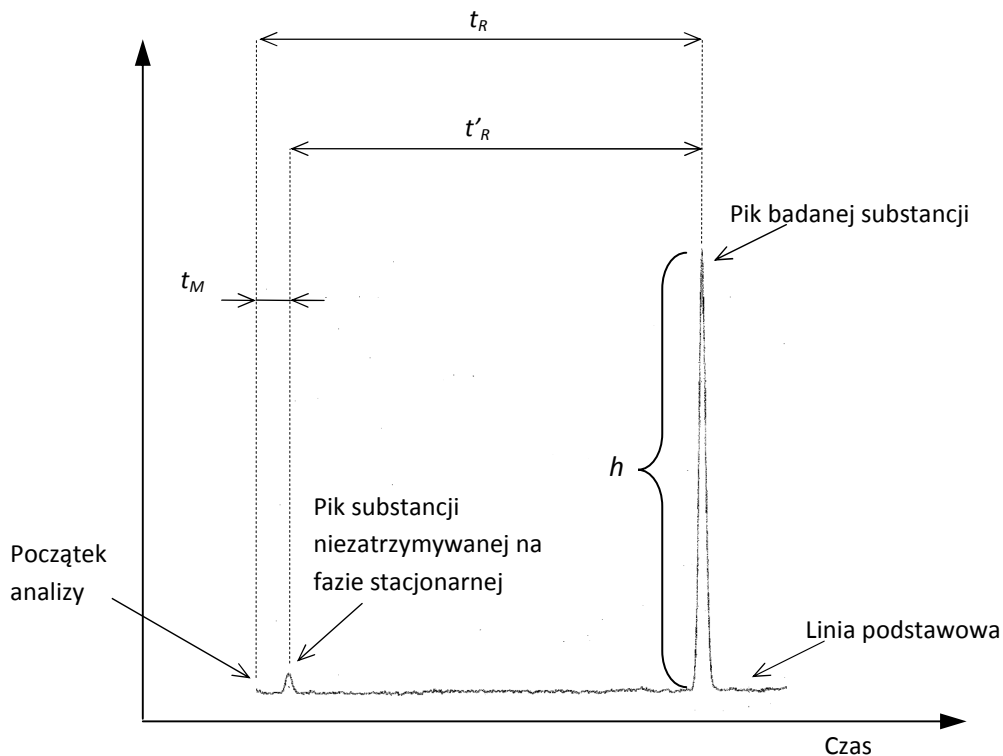
Chromatogram (rysunek 3) jest źródłem informacji:

- o składzie jakościowym rozdzielanej próbki (położenie piku (sygnału chromatograficznego) substancji na chromatogramie, czyli czas retencji piku, pozwala na jej identyfikację);
- o składzie ilościowym (wysokość i pole powierzchni piku substancji odpowiada jej stężeniu w próbce).

Poniżej przedstawiono podstawowe pojęcia związane z **chromatogramem**.

Wysokość piku (h) – jest to odległość pomiędzy podstawą piku a maksimum piku. Wysokość piku jak i jego powierzchnia są proporcjonalne do ilości rozdzielanej substancji a więc służą do analizy ilościowej. Dokładniejsze i bardziej rozpowszechnione w analizie ilościowej jest korzystanie z pola powierzchni piku.

Linia podstawowa (linia zerowa) – jest to część chromatogramu ilustrująca sygnał detektora w czasie, gdy z kolumny wypływa jedynie faza ruchoma. **Podstawa piku** – jest wyznaczana poprzez interpolację linii podstawowej chromatogramu pomiędzy końcami piku.



Rysunek 3. Chromatogram elucyjny oraz podstawowe parametry retencyjne: czas retencji substancji niezatrzymywanej t_M , całkowity czas retencji t_R oraz zredukowany czas retencji t'_R badanej substancji

Z chromatogramu określa się **parametry retencyjne substancji rozdzielanej**. Najczęściej stosowane w chromatografii parametry retencyjne to:

- **czas retencji substancji niezatrzymywanej t_M** - czas liczony od momentu wprowadzenia do kolumny (od początku analizy) substancji niezatrzymywanej przez fazę stacjonarną do momentu pojawienia się na chromatogramie maksimum piku; odpowiada czasowi, w którym faza ruchoma migruje przez kolumnę chromatograficzną oraz przez dozownik, detektor i łączniki; poprzednio nazywany czasem martwym lub **czasem zerowym**;
- **objętość retencji substancji niezatrzymywanej V_M** - objętość fazy ruchomej, która jest potrzebna do elucji substancji niezatrzymywanej przez fazę stacjonarną; poprzednio nazywana objętością martwą lub zerową; objętość retencji substancji niezatrzymywanej jest oczywiście proporcjonalna do czasu retencji substancji niezatrzymywanej:

$$V_M = t_M F_c \quad (1)$$

gdzie:

F_c - natężenie przepływu fazy ruchomej (objętościowa prędkość przepływu fazy ruchomej) w danej temperaturze kolumny;

- **całkowity czas retencji t_R** - czas liczony od momentu wprowadzenia badanej substancji do kolumny (od początku analizy) do momentu pojawienia się na chromatogramie maksimum piku, czyli momentu maksymalnego stężenia substancji na wyjściu z kolumny;
- **całkowita objętość retencji V_R** - objętość fazy ruchomej, która jest potrzebna do elucji badanej substancji, mierzona od momentu wprowadzenia substancji do kolumny do momentu pojawienia się na chromatogramie maksimum piku; całkowita objętość retencji jest proporcjonalna do całkowitego czasu retencji:

$$V_R = t_R F_c \quad (2)$$

- **zredukowany czas retencji t'_R** – różnica pomiędzy całkowitym czasem retencji badanej substancji i czasem retencji substancji niezatrzymywanej:

$$t'_R = t_R - t_M \quad (3)$$

Zredukowany czas retencji charakteryzuje retencję substancji na fazie stacjonarnej i jest charakterystyczny dla danej substancji a więc może służyć do jej identyfikacji;

- **zredukowana objętość retencji V'_R** – różnica pomiędzy całkowitą objętością retencji badanej substancji i objętością retencji substancji niezatrzymywanej:

$$V'_R = V_R - V_M \quad (4)$$

- **współczynnik retencji k** – miara czasu, w jakim substancja przebywa w fazie stacjonarnej w stosunku do czasu, w którym przebywa ona w fazie ruchomej. Określa, ile razy dłużej substancja jest zatrzymywana przez fazę stacjonarną niż potrzebowałaby na przejście przez kolumnę z szybkością fazy ruchomej. Współczynnik retencji liczy się z następującego wzoru:

$$k = t'_R / t_M \quad (5)$$

Współczynnik retencji jest to jednocześnie stosunek ilości substancji w fazie stacjonarnej do ilości tej substancji w fazie ruchomej w stanie równowagi.

1.4. Analiza jakościowa w chromatografii

Analizę jakościową technikami chromatograficznymi można wykonać dwoma sposobami poprzez:

- **wykorzystanie parametrów retencyjnych analitu** (całkowity czas retencji, zredukowany czas retencji),
- **stosowanie detektorów jakościowych**, takich jak spektrometr mas czy spektroskop FTIR.

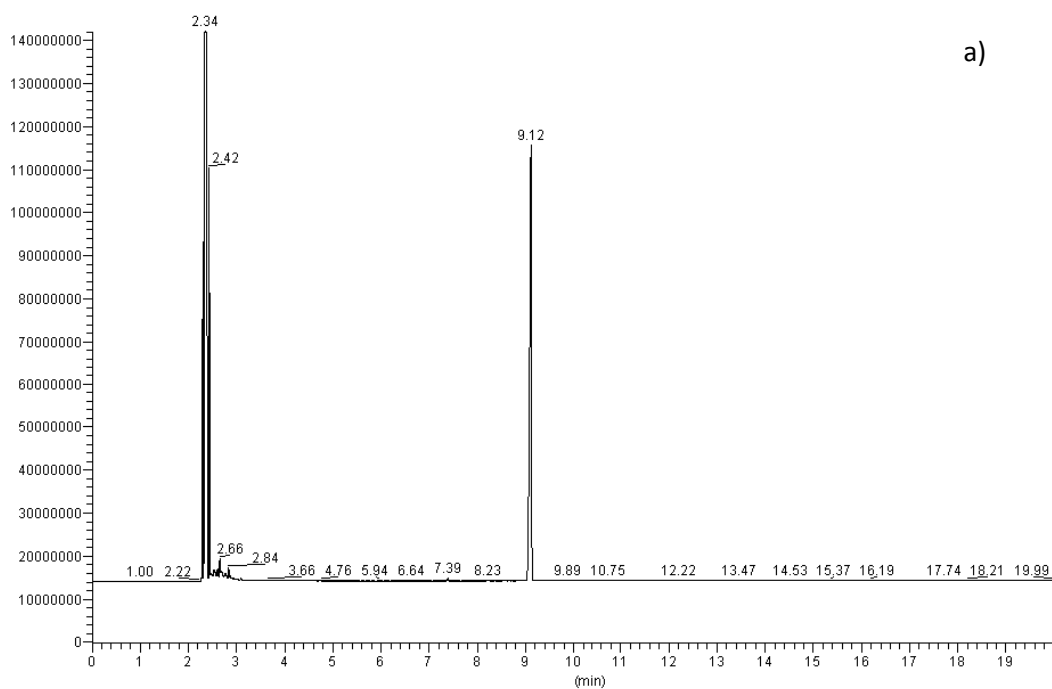
Parametry retencyjne służą do identyfikacji związków chemicznych analizowanych technikami chromatograficznymi, ponieważ **w danych warunkach chromatograficznych, określony związek chemiczny ma zawsze taką samą retencję**. Jednakowe warunki chromatograficzne oznaczają jednakowy rodzaj i wymiary kolumny chromatograficznej, rodzaj fazy ruchomej, szybkość przepływu fazy ruchomej, temperaturę analizy itd.

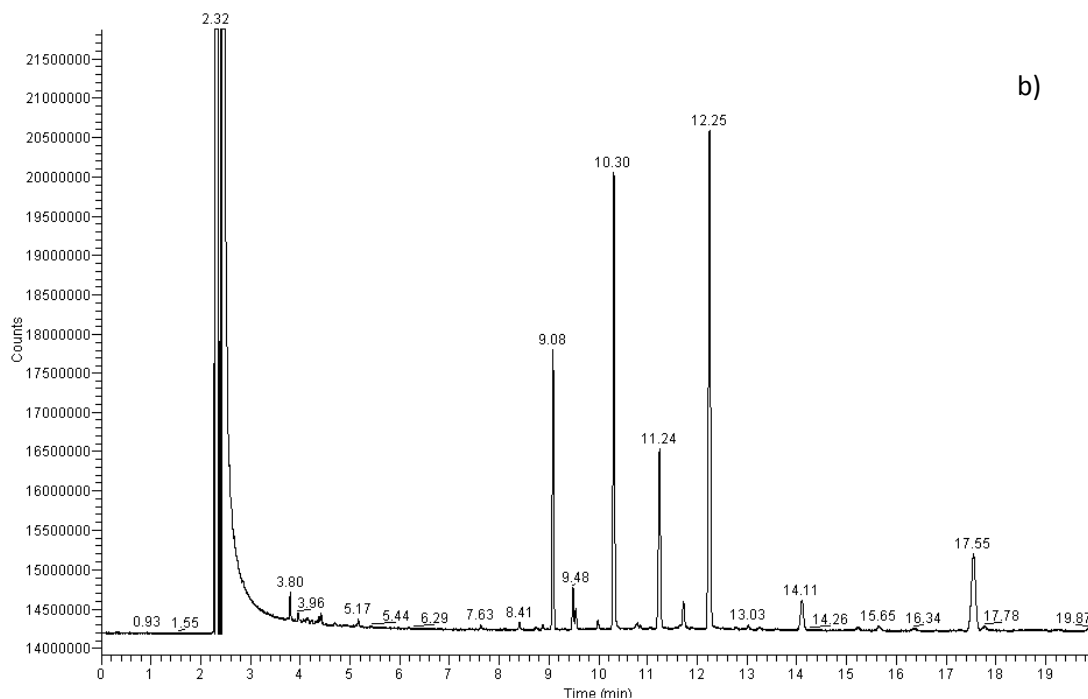
Do identyfikacji związków chemicznych metodą chromatografii gazowej oraz chromatografii ciekłowej stosuje się czas retencji lub zredukowany czas retencji, względny czas retencji odniesiony do retencji substancji wzorcowej oraz indeksy retencji odzwierciedlające względne położenie piku analitu w stosunku do substancji wzorcowych. Identyfikację składnika próbki wykonuje się w ten sposób, że w stałych warunkach chromatograficznych analizuje się bezpośrednio po sobie badaną próbkę oraz wzorzec (rysunek 4). Następnie porównuje się czasy retencji składników próbki oraz wzorca. Jeżeli są inne, to na pewno nie są to identyczne substancje. Jeżeli są takie same, to istnieje duże **prawdopodobieństwo**, że są to identyczne substancje. Jednakże niektóre związki chemiczne o różnej budowie mogą przypadkowo wykazywać taką samą retencję. Aby mieć pewność należy powtórzyć analizę jakościową stosując inne warunki chromatograficzne, to znaczy używając kolumny chromatograficznej wypełnionej fazą stacjonarną o innej polarności.

Detektory jakościowe takie jak spektrometr mas (MS) pozwalają na analizę jakościową składników próbki, ponieważ dostarczają informacji o ich masie cząsteczkowej i budowie strukturalnej. Połączenie chromatografu ze spektrometrem mas pozwala na rozdzielenie mieszaniny składników próbki w kolumnie chromatograficznej a następnie identyfikację składników próbki na podstawie ich widm mas. Możliwe jest połączenie zarówno chromatografu gazowego ze spektrometrem mas (GC-MS) a także chromatografu cieczowego ze spektrometrem mas (LC-MS)(patrz część VI, roz.4. Spektrometria mas).

1.5. Analiza ilościowa w chromatografii

Techniki chromatograficzne, podobnie jak większość technik instrumentalnych, należą do metod porównawczych, które wymagają kalibracji względem wzorców. Analiza ilościowa w technikach chromatograficznych opiera się na tym, że **ilość (masa lub stężenie) składnika próbki jest proporcjonalna do powierzchni (lub wysokości) jego piku**. Analizę można wykonać poprzez porównywanie powierzchni (lub wysokości) piku analitu z powierzchnią (lub wysokością) piku wzorca o znanej masie lub stężeniu. Wpływ na wyniki analizy chromatograficznej ma jakość zastosowanego chromatografu oraz warunki analizy.





Rysunek 4. Chromatogramy GC-FID roztworu dokozanu ($t_R = 9,12$ min) (a) oraz badanej próbki (b); pik o $t_R = 9,08$ min na chromatogramie badanej próbki jest pikiem dokozanu, piki o $t_R = 2,34$ min oraz o $t_R = 2,42$ min na chromatogramie roztworu dokozanu są pikami rozpuszczalników, w których rozpuszczono wzorec dokozanu, również pik o $t_R = 2,32$ min na chromatogramie badanej próbki jest pikiem rozpuszczalnika; inne piki widoczne na chromatogramie próbki (b) są sygnałami pozostałych jej składników

W chromatografii najczęściej stosuje się następujące metody analizy ilościowej (patrz część IV, roz. 3.2. Metody procesu analitycznego, roz. 3.3. Oznaczanie ilościowe metodami wzłędnymi, 3.4. Przedstawianie wyników oznaczeń):

- metoda krzywej kalibracyjnej (inne nazwy: wzorca zewnętrznego, kalibracja bezwzględna),
- metoda wzorca wewnętrznego,
- metoda dodatku wzorca,
- metoda normalizacji wewnętrznej.

W chromatografii cieczowej najczęściej stosowaną metodą analizy ilościowej jest metoda krzywej kalibracyjnej. Można ją stosować jedynie wtedy, kiedy znane są dokładnie objętości roztworów dozowanych do chromatografu, tak jak się to dzieje w przypadku dozowników typu zaworu z pętlą. Drugą metodą analizy stosowaną powszechnie w chromatografii cieczowej jest metoda dodatku wzorca. W tej metodzie objętość próbki wprowadzanej na kolumnę chromatograficzną musi być stała. Warunek ten jest spełniony także w przypadku stosowania dozowników typu zaworu z pętlą.

Metoda wzorca wewnętrznego jest często stosowana w chromatografii gazowej. Powodem jest przede wszystkim mnogość operacji wykonywanych na próbce (m.in. ekstrakcji i przeprowadzania jej w pochodne odpowiednie do analizowania metodą GC), w których czasie może nastąpić pewna utrata próbki. Inne przyczyny to: problemy z określeniem małych objętości rozpuszczalnika, w którym

rozpuszcza się badaną próbkę, niemożność uzyskania powtarzalnego dozowania przy zastosowaniu dozownika z dzieleniem oraz to, że eliminuje się konieczność wykonania krzywej kalibracyjnej.

Metoda normalizacji wewnętrznej polega na wyznaczeniu udziału procentowego wszystkich substancji w próbce. Jest to najprostsza metoda analizy ilościowej, umożliwiająca oszacowanie względnych ilości składników próbki na przykład przy oznaczaniu czystości próbki. **Warunkiem koniecznym stosowania metody normalizacji wewnętrznej jest, aby wszystkie składniki próbki wyluowały z kolumny chromatograficznej i zostały zarejestrowane na chromatogramie.** Metoda normalizacji wewnętrznej jest stosowana przede wszystkim w chromatografii gazowej (GC-FID) natomiast nie jest stosowana w chromatografii cieczowej.

W metodzie prostej normalizacji wewnętrznej powierzchnie pików chromatograficznych mierzy się, a ich sumę przyjmuje za 100% próbki (pomijając pik rozpuszczalnika, w którym rozpuszczono próbkę badaną). Jednakże, aby uzyskać dokładne wyniki, detektor musi wykazywać taką samą odpowiedź (takie same współczynniki detekcji) dla wszystkich analitów obecnych w próbce. Powierzchnia sygnału określonego związku w stosunku do sumy powierzchni wszystkich sygnałów odpowiada zawartości związku w próbce:

$$\%_i = \frac{A_i}{\sum A_i} 100 \quad (6)$$

gdzie:

$\%_i$ – udział % określonego analitu w próbce,
 A_i – powierzchnia pików określonego analitu.

2. Chromatografia cieczowa

Chromatografia cieczowa jest rodzajem chromatografii, w której fazą ruchomą jest ciecz, natomiast fazą stacjonarną jest ciało stałe lub ciecz osadzona na nośniku. **Warunkiem stosowania chromatografii cieczowej jest rozpuszczalność rozdzielanych związków w fazie ruchomej.** Za pomocą chromatografii cieczowej można analizować około 80% znanych związków chemicznych.

W chromatografii cieczowej na przebieg i efekty separacji związków wpływają właściwości zarówno fazy stacjonarnej jak i fazy ruchomej.

Ze względu na **mechanizm oddziaływania rozdzielanych związków z fazą stacjonarną** można podzielić chromatografię cieczową na:

- chromatografię adsorpcyjną,
- chromatografię podziałową,
- chromatografię jonową,
- chromatografię wykluczania,
- chromatografię powinowactwa.

Elucję, czyli wymywanie rozdzielanych związków z fazy stacjonarnej za pomocą fazy ruchomej, można prowadzić **jednym rozpuszczalnikiem lub jedną mieszaniną rozpuszczalników o**

określonym stałym składzie i jest to elucja izokratyczna. Innymi słowy, podczas elucji izokratycznej skład jakościowy i ilościowy fazy ruchomej pozostaje stały. **Elucja gradientowa polega na wymywaniu kolejno kilkoma rozpuszczalnikami lub kolejno kilkoma mieszaninami rozpuszczalników o wzrastającej mocy elucyjnej.** Podczas elucji gradientowej skład fazy ruchomej zmienia się stopniowo lub w sposób ciągły.

2.1. Chromatografia adsorpcyjna

Chromatografia adsorpcyjna zachodzi w układzie ciecz-ciało stałe (ang. *liquid-solid chromatography*, LSC), gdzie - **ciało stałe - adsorbent jest fazą stacjonarną.** Adsorbentem w chromatografii adsorpcyjnej jest najczęściej żel krzemionkowy, choć stosowane są też inne, zarówno polarne jak i niepolarne.

Żel krzemionkowy jest polarnym adsorbentem o ogólnym wzorze sumarycznym $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Jest to materiał porowaty, amorficzny, umożliwiający uzyskanie w czasie produkcji materiału o bardzo rozwiniętej powierzchni właściwej. **Polarność żelu krzemionkowego jest spowodowana przede wszystkim obecnością na jego powierzchni polarnych grup silanolowych ($-\text{Si}-\text{OH}$) oraz siloksanowych ($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$).** Uważa się, że największą rolę w procesie adsorpcji odgrywają grupy silanolowe a adsorpcja na powierzchni żelu krzemionkowego polega przede wszystkim na tworzeniu z nimi wiązań wodorowych.

Kolejność elucji substancji z kolumny z żelem krzemionkowym jako fazą stacjonarną zależy od ich polarności. Substancje o niskiej polarności eluują jako pierwsze a następnie eluują te o większej polarności (rysunek 5).

Chromatografia adsorpcyjna pozwala na rozdział mieszaniny związków na klasy związków o tych samych grupach funkcyjnych (analiza grupowa).

Na przykład, można wydzielić klasę wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych od węglowodorów alifatycznych, ale nie można rozdzielić grupy węglowodorów alifatycznych czy aromatycznych na pojedyncze związki homologiczne.

2.2.1. Chromatografia w normalnym układzie faz

Chromatografia w normalnym układzie faz (NP) występuje wtedy, kiedy faza stacjonarna jest polarna natomiast faza ruchoma jest mniej polarna lub niepolarna.

Chromatografia adsorpcyjna, z żelem krzemionkowym jako fazą stacjonarną, jest chromatografią w normalnym układzie faz. W chromatografii w normalnym układzie faz składnikami fazy ruchomej są niepolarne rozpuszczalniki, takie jak: heksan, eter izopropylowy, chloroform itd.



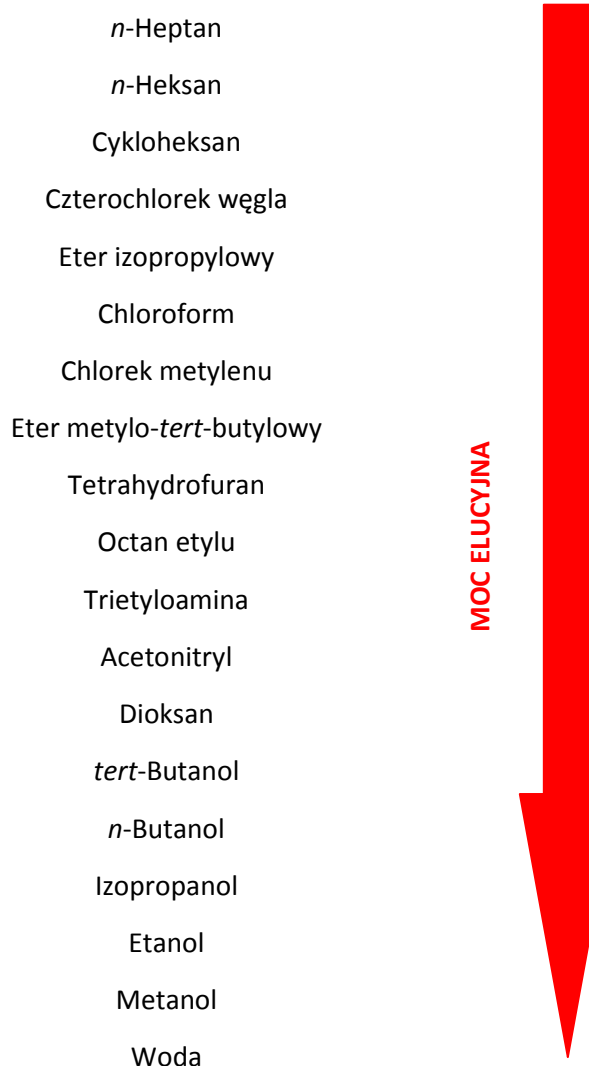
Rysunek 5. Kolejność elucji związków z żelu krzemionkowego [wg: *Laboratory Chromatography Guide*. Talamona, 2005]

Rozpuszczalniki sklasyfikowane według wzrastającej polarności a tym samym według wzrastającej mocy elucyjnej w chromatografii w normalnym układzie faz nazywamy **szeregiem eluotropowym rozpuszczalników** (rysunek 6).

Znajomość szeregu eluotropowego rozpuszczalników ułatwia dobranie odpowiedniej fazy ruchomej do rozdziału chromatograficznego badanej mieszaniny związków.

Efektywność wmywania związku z kolumny napełnionej polarną fazą stacjonarną zależy od **mocy elucyjnej (siły elucyjnej) rozpuszczalnika**, która z kolei zależy od jego polarności i można ją wyznaczyć eksperymentalnie. Czas retencji związku rozdzielanego w chromatografii w normalnym układzie faz skraca się, jeżeli zastosujemy rozpuszczalnik o większej sile elucyjnej (większej polarności) natomiast wydłuża się, jeżeli zastosujemy rozpuszczalnik o mniejszej sile elucyjnej (mniejszej polarności).

Kolejność elucji z kolumny chromatograficznej zależy także od polarności związków rozdzielanych. Związki o niskiej polarności eluują jako pierwsze a następnie eluują związki o większej polarności (rysunek 5).



Rysunek 6. Szereg eluotropowy rozpuszczalników

Chromatografia adsorpcyjna w normalnym układzie faz pozwala na separację związków organicznych na klasy związków. Wynika to z jej słabej rozdzielczości w stosunku do poszczególnych związków organicznych nieróżniących się grupami funkcyjnymi. Separacja zależy od różnic w rodzaju i ilości grup funkcyjnych a nie od różnic w masie cząsteczkowej związków. Tak, więc złożone mieszaniny mogą być podzielone na klasy związków mających takie same grupy funkcyjne, takie jak na przykład alkanany, alkeny, estry, alkohole i wiele innych.

2.2. Chromatografia podziałowa

Chromatografia podziałowa zachodzi w układzie ciecz-ciecz (ang. *liquid-liquid chromatography*, LLC,). Fazą stacjonarną jest ciecz związana chemicznie z ciałem stałym, które jest jej nośnikiem – dlatego nazywamy ją fazą stacjonarną związaną. Obie cieczce, faza ruchoma i faza stacjonarna, nie mogą wzajemnie rozpuszczać się w sobie, aby mógł powstać układ dwufazowy. Ten warunek jest spełniony, gdy jedna faza jest polarna a druga niepolarna.

Mechanizm separacji związków na fazach stacjonarnych związanych jest głównie podziałowy stąd nazwa – chromatografia podziałowa. W chromatografii podziałowej rozdzielanie składników próbki jest wynikiem ich różnej rozpuszczalności w ciekłych fazach chromatograficznych.

Podstawowym nośnikiem do fazy stacjonarnej jest mikroporowaty żel krzemionkowy o niewielkich ziarnach (3, 5 lub 10 μm). **Żel krzemionkowy** jest stosowany jako faza stacjonarna w chromatografii adsorpcyjnej natomiast **w chromatografii podziałowej jest jedynie nośnikiem, z którym faza stacjonarna jest chemicznie związana**. W zależności od tego, jakie grupy funkcyjne (niepolarne czy polarne) zastosuje się do modyfikacji powierzchni żelu krzemionkowego można otrzymać:

- fazę stacjonarną niepolarną, stosowaną w chromatografii w odwróconym układzie faz (*RP*),
- fazę stacjonarną polarną, stosowaną w chromatografii w normalnym układzie faz (*NP*).

W chromatografii podziałowej w normalnym układzie faz wykorzystuje się związane fazy stacjonarne o charakterze hydrofilowym (średniopolarne), takie jak:

- fazy z grupami cyjanopropylowymi, $-(\text{CH}_2)_3\text{-CN}$,
- fazy z grupami propyloaminowymi, $-(\text{CH}_2)_3\text{-NH}_2$.

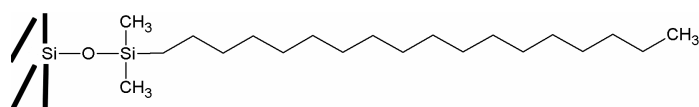
2.2.1. Chromatografia w odwróconym układzie faz

Chromatografia podziałowa częściej niż adsorpcyjna dotyczy odwróconego układu faz.

Chromatografia w odwróconym układzie faz (*RP*) występuje wtedy, kiedy faza stacjonarna jest niepolarna natomiast faza ruchoma jest polarna.

W chromatografii w odwróconym układzie faz składnikami fazy ruchomej są polarne rozpuszczalniki, takie jak woda, metanol, acetonitryl i ich mieszaniny. **Wzrost zawartości wody w fazie ruchomej powoduje wydłużenie czasów retencji związków rozdzielanych i odwrotnie – wzrost zawartości metanolu lub acetonitrylu w fazie ruchomej powoduje skrócenie czasów retencji związków rozdzielanych na kolumnie z niepolarną fazą stacjonarną.**

Najczęściej stosowana jest związana faza oktadecylosilanowa (oznaczana skrótami: ODS, RP-18 lub C_{18}), w której grupy alkilowe na powierzchni żelu krzemionkowego to łańcuchy o 18 atomach węgla (rysunek 7). Te łańcuchy alkilowe mają charakter hydrofobowy a więc związana faza stacjonarna jest również niepolarna. Łańcuch alkilowy może być także zakończony grupą fenylową ($-\text{C}_6\text{H}_5$) lub dwoma grupami fenyłowymi.



Rysunek 7. Związana faza oktadecylosilanowa

Chromatografia w odwróconym układzie faz jest stosowana do rozdzielania większości związków organicznych. Umożliwia np. rozdzielenie mieszaniny na pojedyncze związki homologiczne i tak, w szeregu homologicznym węglowodorów pierwsze eluują węglowodory o mniejszych masach cząsteczkowych, ponieważ ich rozpuszczalność w polarnej fazie ruchomej jest większa niż tych o większych masach cząsteczkowych, które są silniej zatrzymywane na niepolarniej fazie stacjonarnej.

2.3. Techniki chromatografii cieczowej

2.3.1. Niskociśnieniowa chromatografia cieczowa

Zaletą niskociśnieniowej chromatografii kolumnowej jest możliwość rozdzielenia dużych ilości próbki, zazwyczaj większych niż za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Z tego powodu ten rodzaj chromatografii jest najczęściej stosowany jako **chromatografia preparatywna**. W chromatografii kolumnowej niskociśnieniowej stosuje się głównie żel krzemionkowy jako fazę stacjonarną.

Zasadniczą częścią każdego zestawu do niskociśnieniowej chromatografii kolumnowej jest kolumna ze szkła obojętnego (rysunek 8), której wymiary są dostosowane do skali przeprowadzanego rozdzielenia. Najczęściej mieszczą one od 10 do 100 g fazy stacjonarnej, co wystarcza do rozdzielenia od 0,1 do kilku gramów próbki. **Z reguły dobiera się taką ilość fazy stacjonarnej, aby masa rozdzielanej próbki wynosiła 5 - 10% masy fazy stacjonarnej**. Dla przyspieszenia przepływu fazy ruchomej stosuje się słabe ssanie (np. pompka wodna) lub słabe tłoczenie.

Napełnianie kolumny fazą stacjonarną można przeprowadzać na sucho i na mokro. W metodzie na sucho fazę stacjonarną wsypuje się małymi porcjami do kolumny i ubija pałeczką szklaną. Następnie przemywa się ją fazą ruchomą. Metoda na mokro polega na wprowadzaniu do kolumny zawiesiny fazy stacjonarnej w fazie ruchomej. **W obu metodach napełnianie należy wykonać w taki sposób, by złoże było jednorodne, pozbawione pęcherzyków powietrza i tak ułożone, by nie zmieniało objętości w czasie rozdzielenia. Powierzchnia złoża powinna być stale pokryta płynem od chwili nalania pierwszej porcji fazy ruchomej aż do zakończenia procesu chromatograficznego**. Metoda napełniania kolumny na mokro jest łatwiejsza i bardziej popularna.

Rozpoczynając proces chromatograficzny nanosi się badaną próbkę w postaci roztworu na wierzch fazy stacjonarnej wypełniającej kolumnę. **Wybór rozpuszczalnika do rozpuszczenia próbki zależy przede wszystkim od rozpuszczalności składników próbki; powinien charakteryzować się jak najmniejszą siłą elucyjną**.

Następnie eluuje, czyli wymywa rozdzielone składniki próbki z fazy stacjonarnej, przepuszczając fazę ruchomą przez kolumnę. Fazę ruchomą wprowadza się do zbiornika na wierzchołku kolumny.

Wyływającą z kolumny fazę ruchomą zawierającą separowane składniki próbki zbiera się, jako tzw. **frakcje**, do kolejnych próbek lub cylindrów miarowych. **Zbieranie frakcji zaczyna się od momentu wprowadzenia próbki na wierzch fazy stacjonarnej, czyli od początku procesu chromatograficznego**. Poszczególne frakcje odparowuje się i bada innymi metodami. Do monitorowania składu frakcji w chromatografii niskociśnieniowej można stosować analizę TLC.



Rysunek 8. Chromatografia cieczowa niskociśnieniowa

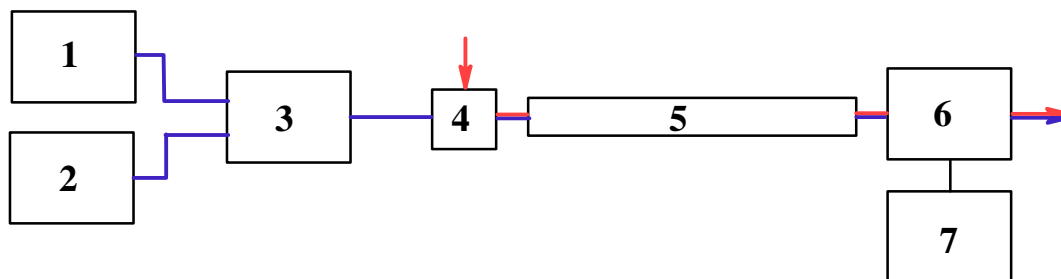
2.3.2. Wysokosprawna chromatografia cieczowa

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) jest szeroko stosowaną nowoczesną techniką separacyjną. HPLC charakteryzuje się wysoką sprawnością, dobrą rozdzielczością, krótkim czasem analizy oraz stosowaniem wysokich ciśnień. Zasadniczą różnicą pomiędzy chromatografią kolumnową niskociśnieniową a chromatografią wysokosprawną jest rozmiar cząstek wypełnienia kolumny. W HPLC stosuje się drobne ziarna wypełnienia (o wymiarach rzędu 5 μm lub mniejsze), dzięki czemu osiąga się wysoką sprawność tych kolumn. Jednocześnie trzeba stosować wysokie ciśnienia, aby wymusić przepływ fazy ruchomej przez kolumnę.

Analizę związków chemicznych techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej wykonuje się przy użyciu chromatografów cieczowych (rysunek 9).

Chromatograf cieczowy składa się z następujących części:

- **zbiornik fazy ruchomej,**
- **pompa,**
- **dozownik,**
- **kolumna,**
- **detektor,**
- **komputer lub rejestrator.**



Rysunek 9. Schemat blokowy chromatografu ciekłego HPLC; 1, 2 – zbiorniki składników fazy ruchomej, 3 – pompa, 4 – dozownik, 5 – kolumna, 6 – detektor, 7 – komputer lub rejestrator; linia niebieska pokazuje drogę fazy ruchomej, linia czerwona – drogę próbki, obie drogi łączą się w dozowniku

Zasada działania chromatografu ciekłego jest następująca. Faza ruchoma jest pobierana przez pompę ze zbiorników i następnie tłoczona pod ciśnieniem poprzez dozownik do kolumny chromatograficznej i dalej do detektora. Próbkę wprowadza się do strumienia fazy ruchomej w dozowniku. Składniki próbki są rozdzielane na kolumnie, po czym trafiają wraz z fazą ruchomą do detektora. Detektor wykrywa składniki próbki w fazie ruchomej i wysyła sygnał do komputera, w którym jest on zapisywany w postaci pików chromatograficznych tworzących chromatogram. Kolumna dodatkowo może być umieszczana w termostacie.

Chromatografy ciekłe są wyposażone w dozowniki umożliwiające wprowadzenie ciekłych próbek pod ciśnieniem atmosferycznym do kolumny, w której panuje zwiększone ciśnienie nawet rzędu kilkudziesięciu MPa. Najczęściej stosuje się sześciopiętne zawory dozujące. Kierunek przepływu fazy ruchomej przez dozownik zależy od położenia dźwigni zaworu:

- **pozycja A (LOAD)** – faza ruchoma omija pętlę dozującą, można ją przepłukać i napełnić za pomocą szklanej mikrostrzykawki; w pętli panuje ciśnienie atmosferyczne,
- **pozycja B (INJECT)** – faza ruchoma przepływa przez pętlę dozującą i zabiera ze sobą znajdującą się w pętli próbkę, wprowadzając ją jednocześnie do kolumny. Jest to początek analizy chromatograficznej.

Próbkę dozuje się przy użyciu szklanej mikrostrzykawki, której igła ma tępo zakończony koniec. Nie wolno pomylić mikrostrzykawki stosowanej w HPLC z tą stosowaną w chromatografii gazowej, ponieważ można uszkodzić dozownik.

Kolumna chromatograficzna jest zasadniczym elementem chromatografu – w niej zachodzi proces rozdzielania składników wprowadzonej próbki. Kolumny stosowane w HPLC są wykonane ze stali i fabrycznie wypełnione fazą stacjonarną (rysunek 10).

Stosuje się kolumny o różnych wymiarach: najczęściej o długości od 10 do 30 cm i o średnicy od 4 do 5 mm. Cząstki wypełnienia kolumny mają zazwyczaj średnicę około 3 do 6 μm . Współcześnie jednak coraz popularniejsze stają się zminiaturyzowane formy kolumn chromatograficznych, zwłaszcza przy zastosowaniu tzw. ultrasprawnej chromatografii ciekłej (UPLC), gdzie długość kolumn nie przekracza 2,5 cm, a cząstki wypełnienia mają średnicę poniżej 2 μm .



Rysunek 10. Kolumny HPLC

W chromatografii ciekowej stosuje się różne typy detektorów do wykrywania określonych grup związków chemicznych. Są to przede wszystkim detektory spektrofotometryczne. Ich zasada działania polega na rejestrowaniu różnicy pomiędzy właściwościami fazy ruchomej a poszczególnymi składnikami rozdzielanej próbki. Faza ruchoma opuszczając kolumnę chromatograficzną przepływa przez przepływową komórkę pomiarową w detektorze.

Najczęściej stosowanym detektorem jest **detektor spektrofotometryczny**. Mierzy on absorpcję promieniowania w zakresie UV/Vis zgodnie z prawem Lamberta-Beera. Warunkiem stosowania detektora spektrofotometrycznego UV jest zdolność badanych substancji do pochłaniania promieniowania UV. Aby pomiar był możliwy, faza ruchoma nie powinna absorbować promieniowania przy zastosowanej długości fali. Absorpcja promieniowania w zakresie UV/Vis jest związana z przejściami elektronów wiązań pojedynczych (σ), wiązań wielokrotnych (π) oraz elektronów wolnych par elektronowych (n) z orbitalu o niższej energii na wolny orbital o wyższej energii. **Detektor spektrofotometryczny UV stosuje się do analiz związków posiadających ugrupowania chromoforowe. Typowymi chromoforami są sprzężone wiązania podwójne węgiel-węgiel i węgiel-heteroatom oraz ugrupowania aromatyczne.**

Najprostsze detektory umożliwiają wykrywanie rozdzielanych związków przy jednej długości fali – 254 nm, natomiast inne umożliwiają płynną regulację długości fali w zakresie UV/Vis. Popularne są również detektory z matrycą fotodiodową (ang. *diode array detector*, DAD). Detektor DAD umożliwia rejestrację całego widma badanej substancji w trakcie jej przechodzenia przez detektor, dzięki czemu można ją zidentyfikować.

Detektor spektrofotometryczny UV jest niewrażliwy na zmiany przepływu fazy ruchomej i zmiany temperatury. Może być także stosowany w elucji gradientowej.

2.3.3. Chromatografia cienkowarstwowa

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) jest to proces chromatograficzny prowadzony na cienkiej warstwie fazy stacjonarnej naniesionej na podłoże z płytek szklanych lub folii aluminiowych czy polimerowych (rysunek 2). W chromatografii cienkowarstwowej stosuje się takie same fazy ruchome jak w kolumnowej chromatografii ciekowej. Dobór fazy ruchomej jest oparty na takich samych zasadach. Najbardziej popularną fazą stacjonarną stosowaną w TLC jest żel krzemionkowy.

Próbkę nanosi się na płytkę TLC w postaci roztworu o bardzo małej objętości, tworząc małą plamkę w punkcie startowym (rysunek 2). Płytki umieszcza się w komorze chromatograficznej, w której na dnie znajduje się faza ruchoma (rysunek 11). W wyniku działania sił kapilarnych faza ruchoma wędruje w górę płytki a wraz z nią migrują składniki próbki i następuje ich rozdzielanie. Proces ten w TLC nazywa się **rozwijaniem chromatogramu**. Jeśli faza ruchoma wędruje z dołu do góry jest to proces **rozwijania chromatogramu metodą wstępującą**. Oddziaływanie substancji znajdujących się w próbce z adsorbentem oraz z poruszającym się rozpuszczalnikiem powoduje rozdzielanie się składników próbki na płytce i poszczególne składniki tworzą oddzielne plamki. **Plamki rozdzielanych składników należy z kolei uwidocznić, czyli wywołać**. Chromatogramy wywołuje się najczęściej odczynnikami chemicznymi, które tworzą barwne związki z analitami. Często ogląda się chromatogramy TLC oświetlane lampą wytwarzającą promieniowanie UV, aby zobaczyć substancje wykazujące właściwości fluorescencyjne pod wpływem promieniowania UV. Fluorescencja jest to zjawisko emitowania przez niektóre związki chemiczne światła pod wpływem naświetlania zewnętrznym promieniowaniem.



Rysunek 11. Komora do chromatografii cienkowarstwowej

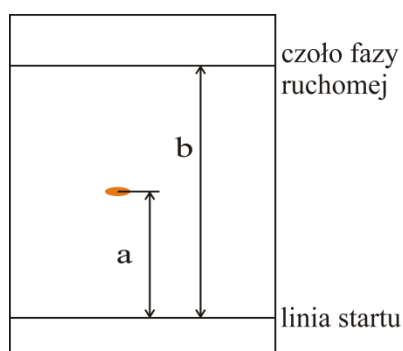
Podstawowym parametrem w chromatografii cienkowarstwowej, który określa położenie substancji na chromatogramie, jest **współczynnik opóźnienia R_F** .

Jest to stosunek drogi migracji substancji (a) do drogi przebytej przez fazę ruchomą (b):

$$R_F = a/b \quad (7)$$

Sposób jego wyznaczenia jest pokazany na rysunek 12. Współczynnik opóźnienia przyjmuje wartości od 0 do 1. Jest charakterystyczny dla danej substancji w danych warunkach chromatograficznych i może służyć do jej identyfikacji.

Jeżeli dana substancja ma tę samą wartość współczynnika opóźnienia jaką ma wzorzec, wyznaczoną w takich samych warunkach chromatograficznych, to prawdopodobnie jest identyczna ze wzorcem. Najczęściej analizę jakościową wykonuje się w ten sposób, że na jedną płytkę TLC nanosi się badaną próbkę oraz obok nanosi się również wzorzec. Po rozwinięciu płytki sprawdza, która plamka badanej próbki ma taką samą wartość współczynnika opóźnienia, jaką ma wzorzec.



Rysunek 12. Sposób pomiaru współczynnika opóźnienia

Zasady analizy TLC są następujące:

- powierzchni płytek nie wolno dotykać palcami;
- przy cięciu płytki nożyczkami nie wolno zniszczyć warstwy fazy stacjonarnej;
- dobrze jest usunąć ukruszoną część fazy stacjonarnej z brzegu, który był przecięty, za pomocą szpatułki lub delikatnie przesuwając palcem po krawędzi płytki;
- na płytce **delikatnie** zaznacza się **miękkim ołówkiem** jedynie punkt startowy i ewentualnie linię końcową czoła fazy ruchomej za pomocą niewielkiej kreski o szerokości 0,5 cm z boku płytki. Opis nanoszonych próbek najlepiej zamieścić w zeszycie laboratoryjnym a nie na płytce TLC. Zniszczenie powierzchni fazy stacjonarnej poprzez rysowanie na płytce powoduje błędy w analizach TLC;
- **nie wolno poruszyć komory chromatograficznej** w trakcie rozwijania chromatogramu.

3. Chromatografia gazowa

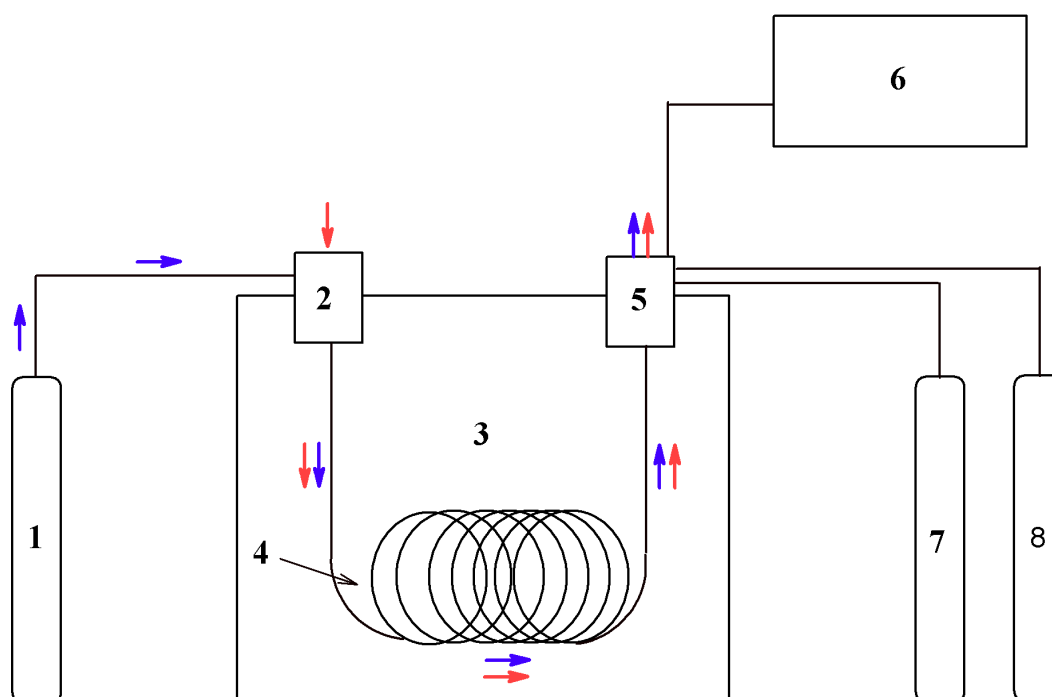
Chromatografia gazowa (GC) jest rodzajem chromatografii, w której fazą ruchomą jest gaz. Fazą stacjonarną w chromatografii gazowej może być:

- **ciecz osadzona na stałym nośniku** w postaci jednorodnego filmu (warstwy), wtedy mamy do czynienia z chromatografią podziałową (ang. *gas-liquid chromatography*, GLC);
- **ciało stałe - adsorbent**, wtedy mamy do czynienia z chromatografią adsorpcyjną (ang. *gas-solid chromatography*, GSC).

Chromatografia gazowa jest stosowana do analiz związków chemicznych, które w warunkach analizy chromatograficznej mają postać gazów lub par. Są to substancje gazowe, ciekłe i stałe, których temperatura wrzenia lub sublimacji nie przekracza 350 - 400°C.

3.1. Chromatograf gazowy

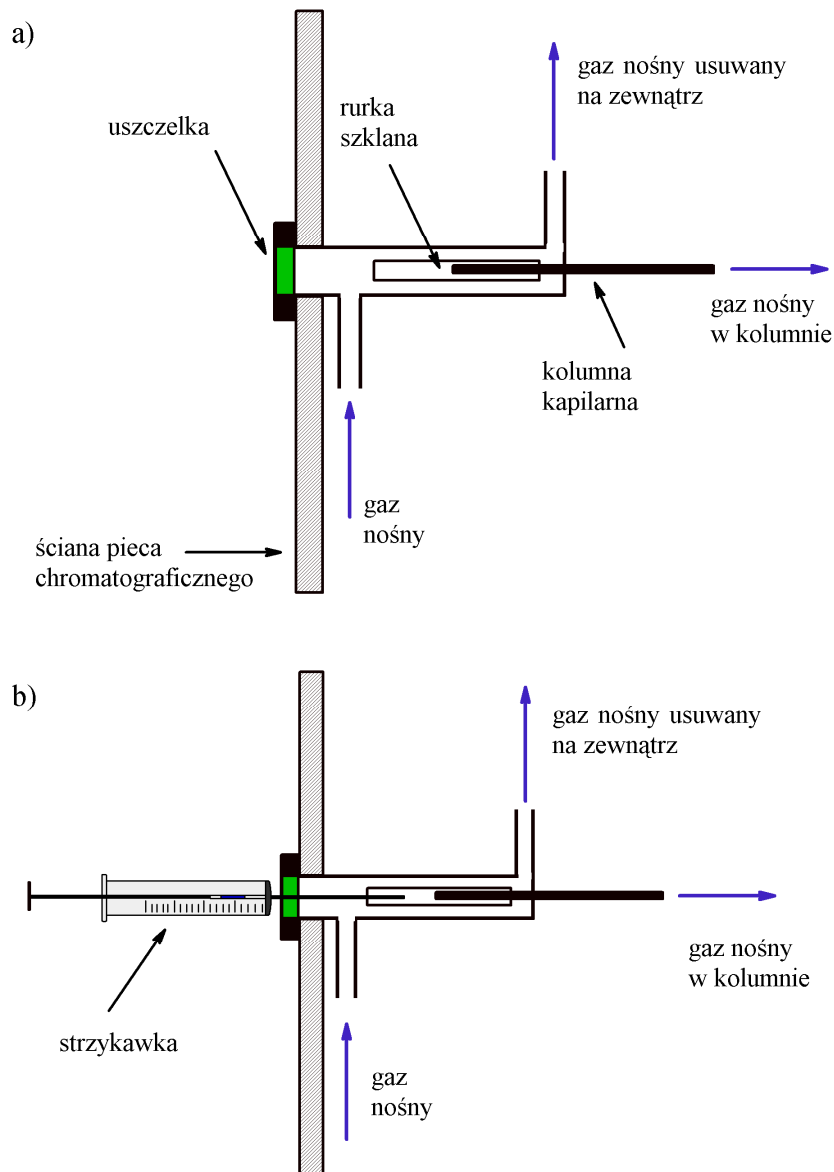
Analizę związków chemicznych techniką chromatografii gazowej wykonuje się przy użyciu **chromatografów gazowych**. Schemat chromatografu gazowego przedstawiono na rysunek 13. Gaz nośny (faza ruchoma) doprowadzony z butli płynie przez regulator przepływu do dozownika, a następnie przez kolumnę i detektor, skąd jest usuwany na zewnątrz do atmosfery. Kolumna jest umieszczona w **termostacie (piecu chromatograficznym)**. **Temperatura dozownika, detektora i kolumny jest odpowiednio regulowana. Do dozownika wprowadza się próbkę, która po przejściu w stan pary w dozowniku miesza się ze strumieniem gazu nośnego i następnie jest przenoszona do kolumny.** W kolumnie następuje rozdział chromatograficzny składników próbki, które opuszczają kolumnę wraz z gazem nośnym i trafiają kolejno do detektora. Składniki próbki są monitorowane w detektorze, generując w nim sygnał elektryczny. Sygnały po wzmocnieniu we wzmacniaczu mogą być rejestrowane w komputerze lub rejestratorze.



Rysunek 13. Schemat blokowy chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym GC-FID, 1 – butla z gazem nośnym, 2 – dozownik, 3 – piec chromatograficzny, 4 – kolumna, 5 – detektor, 6 – komputer lub rejestrator, 7 – butla z wodorem, 8 – butla z powietrzem; linia niebieska pokazuje drogę gazu nośnego, linia czerwona – drogę rozdzielanej próbki, obie drogi łączą się w dozowniku

Dozownik jest elementem umożliwiającym wprowadzenie próbki w strumień gazu nośnego, który przenosi ją do kolumny. Klasyczne dozowanie próbki do typowej kolumny kapilarnej polega na wprowadzeniu niewielkich objętości cieczy (0,1–2 μl) do dozownika za pomocą strzykawki. W dozowniku następuje gwałtowne odparowanie rozpuszczalnika i przejście próbki w stan pary i po zmieszaniu z gazem nośnym próbka jest wprowadzana na kolumnę.

Dla większości kolumn kapilarnych dopuszczalna objętość próbki wynosi 0,01 do 0,001 μl cieczy. Dlatego w chromatografii kapilarnej stosuje się często **dozowniki z dzieleniem strumienia gazu nośnego** (rysunek 14). Taki dozownik dozuje do kolumny tylko niewielką część próbki np. 1/100 – 1/300, a pozostała część jest usuwana na zewnątrz.



Rysunek 14. Schemat dozownika z dzieleniem strumienia gazu nośnego (a) oraz proces dozowania za pomocą mikrostrzykawki (b). [wg. *Quantitative Chromatographic Analysis*. Beesley et al., 2000]

W kolumnie zachodzi właściwy proces chromatograficzny i dlatego jej rodzaj ma decydujący wpływ na jakość rozdzielania składników próbki, czyli na wynik analizy chromatograficznej.

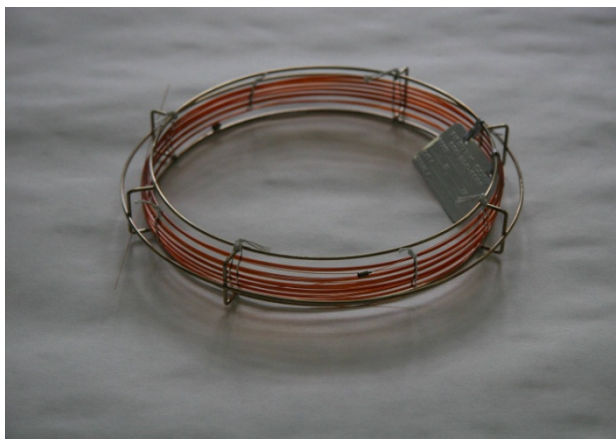
Rozróżnia się następujące rodzaje kolumn (rysunek 15):

- **kolumny pakowane** (kolumny z wypełnieniem): analityczne, mikropakowane i preparatywne,
- **kolumny kapilarne** - o przekroju otwartym.

a)



b)

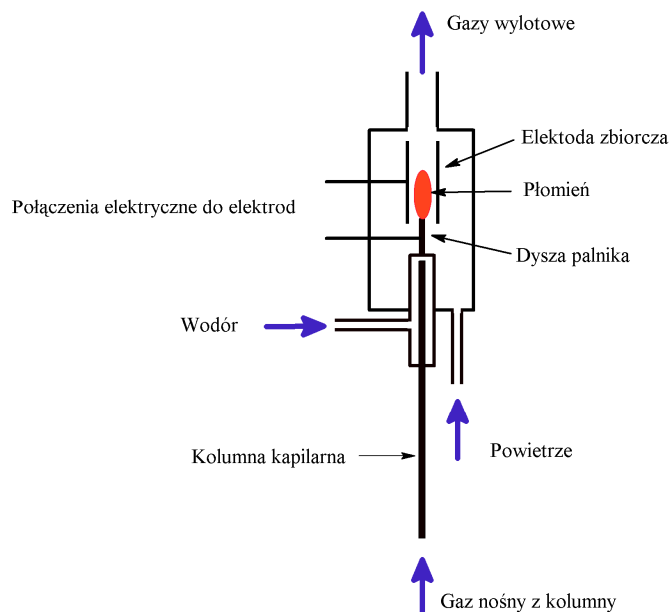


Rysunek 15. Kolumna pakowana (a) oraz kolumna kapilarna (b)

Ciekłe fazy stacjonarne w chromatografii gazowej to najczęściej:

- **fazy niepolarne;** są to węglowodory będące dobrymi rozpuszczalnikami substancji niepolarnych (np. skwalan),
- **fazy średniopolarne;** są to siloksany o różnej masie cząsteczkowej, najczęściej stosowane: polidimetylosiloksan, polimetylofenylosiloksan, policyjanoalkilosiloksan,
- **fazy polarne** jak glikole polietylenowe (np. Carbowax) lub estry oraz fazy oparte o kopolimery styrenu i diwinylobenzenu (np. PorapLOT Q).

Najczęściej używanym detektorem jest **detektor płomieniowo-jonizacyjny** (FID). Jest to detektor uniwersalny, czyli taki, który jest czuły na prawie wszystkie związki organiczne. Detektor FID nie wykrywa obecności związków nieorganicznych oraz niektórych związków węgla: CO, CO₂, CS₂, HCOOH, COCl₂. Zasada działania detektora FID (rysunek 16) jest następująca: do detektora doprowadzone są z butli dwa gazy: wodór i powietrze. Gaz nośny z wypływający z kolumny jest mieszany z wodorem i kierowany przez dyszę do komory, przez którą przepływa powietrze. Wodór spala się tworząc płomień wodorowy. Składniki próbki doprowadzone wraz z gazem nośnym do płomienia ulegają spalaniu. Niewielka część (około 0,0018%) atomów węgla ulega jonizacji w trakcie spalania co odpowiada wytworzeniu około dwóch jonów lub elektronów na 10⁵ cząsteczek analitu dostarczonych do detektora. W komorze znajdują się dwie elektrody: jedną jest dysza palnika, drugą (zbierającą) stanowi pierścień umieszczony w odpowiedniej odległości od dyszy. Powstający prąd jonowy jest wzmacniany i rejestrowany przez potencjometr. Sygnał z detektora jest proporcjonalny do liczby atomów węgla niezwiązanych z tlenem a więc w przybliżeniu jest proporcjonalny do masy substancji.



Rysunek 16. Schemat detektora FID [wg. *Quantitative Chromatographic Analysis*. Beesley et al., 2000]

3.2. Dobór warunków analizy chromatografii gazowej

Parametry analizy metodą chromatografii gazowej dobierane są do konkretnego analitu i konkretnej próbki. Najważniejsze parametry pracy układu chromatograficznego to:

- rodzaj fazy stacjonarnej,
- wymiary kolumny,
- temperatura pieca chromatograficznego,
- rodzaj detektora i dozownika,
- temperatura detektora i dozownika,
- wielkość dozowanej próbki.

Wybór fazy stacjonarnej do analizy nie jest sprawą łatwą i najczęściej bywa dokonywany eksperymentalnie. Najważniejszą cechą faz stacjonarnych decydującą o oddziaływaniu z cząsteczkami związków rozdzielanych jest ich polarność.

Ogólne zasady wyboru ciekłych faz stacjonarnych (GLC):

- do rozdziału substancji niepolarnych stosuje się fazę stacjonarną niepolarną,
- do rozdziału substancji polarnych stosuje się fazę stacjonarną polarną,
- związki niepolarne są rozdzielane na niepolarnej fazie stacjonarnej zgodnie z uszeregowaniem ich według temperatur wrzenia (lotności),
- związki niepolarne są eluowane przed związkami polarnymi o tej samej temperaturze wrzenia, jeżeli faza stacjonarna jest polarna,
- związki polarne są eluowane przed związkami niepolarnymi o tej samej temperaturze wrzenia, jeżeli faza stacjonarna jest niepolarna.

Wpływ długości kolumny na analizę jest następujący: im dłuższa kolumna tym czasy retencji są większe i tym wyraźniejsze są różnice między czasami retencji dwóch substancji. Jednak dłuższy czas analizy powoduje, że piki są bardziej rozmyte.

Temperatura kolumny ma ogromny wpływ na analizę. Proces chromatograficzny można prowadzić w stałej temperaturze (tzw. **analiza izotermiczna**) lub metodą programowanej temperatury (**analiza z programowaną temperaturą**). Tę drugą chromatografię stosuje się wtedy, gdy składniki mieszaniny różnią się znacząco temperaturami wrzenia, np. węglowodory z ropy naftowej lub szereg homologiczny alkoholi.

W analizie z programowaną temperaturą roztwór próbki jest wprowadzany do kolumny chromatograficznej utrzymywanej w stosunkowo niskiej temperaturze – niższej (o około 90°C) niż temperatura wrzenia najbardziej lotnego składnika próbki. Następnie temperatura kolumny chromatograficznej jest stopniowo podwyższana. Narost temperatury jest odpowiednio programowany na przykład 4°C/min. Końcowa temperatura kolumny powinna być bliska temperaturze wrzenia najmniej lotnego składnika próbki, ale nie może przekraczać dopuszczalnego limitu temperaturowego pracy kolumny określanego przez jej producenta.

3.3. Połączenie chromatografii gazowej ze spektrometrią mas

Typowa w technikach chromatograficznych identyfikacja analitów jedynie na podstawie parametrów retencji jest na ogół metodą niewystarczającą, ponieważ w próbkach naturalnych występuje wiele różnych substancji, które mogą mieć bardzo zbliżony lub nawet identyczny czas retencji jak badane związki. W celu dokonania poprawnej analizy jakościowej stosuje się połączenie chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC/MS). Substancje rozdzielane w kolumnie chromatograficznej są wraz z fazą ruchomą kierowane do spektrometru mas, gdzie następuje ich jonizacja i ewentualnie fragmentacja, natomiast identyfikacja poszczególnych związków potwierdzana jest na podstawie analizy ich widm mas. W takim przypadku spektrometr mas pełni rolę detektora do chromatografii gazowej. Obie techniki doskonale się uzupełniają. W technice GC/MS preferowane są kolumny kapilarne, ponieważ umożliwiają bezpośrednie wprowadzenie eluatu z kolumny do komory jonizacyjnej spektrometru. Gazem nośnym w technice GC/MS jest hel.

Najczęściej w technice GC/MS stosuje się jonizację strumieniem elektronów. Jonizacja strumieniem elektronów (ang. *electron impact*, EI) polega na bombardowaniu wiązką elektronów analizowanych cząsteczek znajdujących się w stanie gazowym (pary). Technika GC/MS z jonizacją strumieniem elektronów jest stosowana do analizy związków organicznych. GC/MS jest stosowana zarówno do identyfikacji składników analizowanych próbek jak i do oznaczania ilościowego poszczególnych związków (*patrz część VI, roz.4. Spektrometria mas*).

4. Literatura

1. Ahuja, S. *Chromatography and separation science*; Academic Press: New York, 2003.
2. Beesley, T. E.; Buglio, B.; Scott, R. P. W. *Quantitative Chromatographic Analysis*; Marcel Dekker: New York, 2000; *e-książki*.
3. Cazes, J.; Scott, R. P. W. *Chromatography theory*; Marcel Dekker: New York, 2002.
4. de Hoffmann, E.; Charette, J.; Stroobant, V. *Spektrometria mas*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1998.

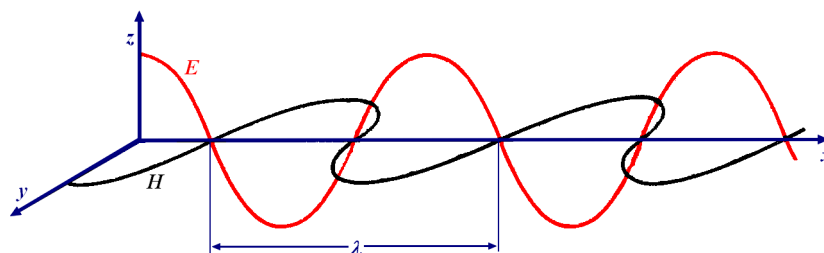
5. Deyl, Z.; Macek, K.; Janák, J. *Liquid column chromatography: a survey of modern techniques and applications*; Elsevier: Amsterdam, 1975.
6. Downard, K. *Mass spectrometry: a foundation course*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2004.
7. Ettre, L. S. *Pure Appl. Chem.* **1993**, 65, 819-872,
<http://www.iupac.org/publications/pac/65/4/0819/>
8. Fried, B.; Sherma, J. *Thin-Layer Chromatography*, Marcel Dekker: New York, 1999; *e-książki*.
9. Hahn-Deinstrop, E. *Applied Thin-Layer Chromatography: Best Practice and Avoidance of Mistakes*; Wiley-VCH: Weinheim, 2007.
10. Katz, E.; Eksteen, R.; Schoenmakers, P.; Miller, N. (red) *Handbook of HPLC*; Marcel Dekker: New York, 1998.
11. Kocjan, R. (red.) *Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL: Warszawa, 2000; Tom 2.
12. Lindsay, S. *High performance liquid chromatography*; Analytical Chemistry by Open Learning; John Wiley & Sons Inc.: New York, 1997.
13. Michalski, R. *Chromatografia jonowa: podstawy i zastosowania*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2005.
14. Patnaik, P. *Dean's Analytical Chemistry Handbook*; McGraw-Hill: New York, 2004; *e-książki*.
15. Sadek, P. C. *Illustrated pocket dictionary of chromatography*; John Wiley & Sons Inc.: New York, 2004.
16. Scott, R. P. W. *Techniques and practice of chromatography*; Chromatographic Science Series; Marcel Dekker: New York, 1995.
17. Snyder, L. R.; Kirkland, J. J. *Introduction to modern liquid chromatography*; John Wiley & Sons Inc.: New York, 1979.
18. Snyder, L. R.; Kirkland, J. J.; Glajch, J. L. *Practical HPLC method development*; John Wiley & Sons Inc.: New York, 1997.
19. Szczepaniak, W. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1996.
20. Talamona, A. *Laboratory Chromatography Guide*; Büchi Labortechnik AG: Flawil, Switzerland, 2005.
21. Viehweger, K. H. (red.) *Praktyczna chromatografia jonowa*; Metrom: Herisau, Szwajcaria, 2010.
22. Willard, H. H.; Merritt, L. J.; Dean, J. A.; Settle, F. A. *Instrumental Methods of Analysis*; Wadsworth Publishing Company: Belmont, USA, 1988.
23. Witkiewicz, Z.; Hepter, J. *Chromatografia gazowa*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2001.
24. Witkiewicz, Z. *Podstawy chromatografii*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1992.
25. Witkiewicz, Z. (red.); Soczewiński, E. (red.); Suprynowicz, Z. (red.) *Nomenklatura chromatograficzna*; Polskie Towarzystwo Chemiczne: Warszawa, 1996.
26. Zieliński, W.; Rajca, A. *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1995.

VI. Spektroskopowe metody analityczne

1. Wstęp

W metodach spektroskopowych sygnał powstaje w wyniku **oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego lub korpuskularnego na badaną próbkę**. Oddziaływanie to polega na zjawisku **pochłaniania (absorpcji)** lub zjawisku **wysyłania (emisji)** energii przez próbkę w **skończonych porcjach, tzw. kwantach energii**.

Promieniowaniem elektromagnetycznym nazywane są zaburzenia pola elektromagnetycznego (fale elektromagnetyczne) rozchodzące się w próżni z prędkością światła, polegające na **poprzecznym (wzajemnie do siebie i do kierunku rozchodzenia się fali) drganiu wektorów natężeń pól magnetycznego H i elektrycznego E** (rysunek 1).



Rysunek 1. Falowy obraz promieniowania elektromagnetycznego

Promieniowanie elektromagnetyczne można opisać jako falę oraz jako strumień fotonów. Fala jest opisywana za pomocą dwóch parametrów: długości fali oraz jej częstości, które powiązane są ze sobą za pomocą klasycznej zależności:

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (1)$$

gdzie:

λ - długość fali [m],

ν - częstość [Hz],

c - prędkość rozchodzenia się światła w próżni (3×10^8 m/s).

Niekiedy do opisu falowej natury promieniowania elektromagnetycznego, zwłaszcza z zakresu podczerwieni, wykorzystuje się pojęcie liczby falowej - $\bar{\nu}$ ($\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$), która określa liczbę fal promieniowania danej długości przypadającą na odcinek 1 cm.

Fotony nie mają masy spoczynkowej oraz ładunku, ale niosą ze sobą ściśle określoną energię E , którą wyraża zależność Plancka:

$$E = h\nu \quad (2)$$

gdzie:

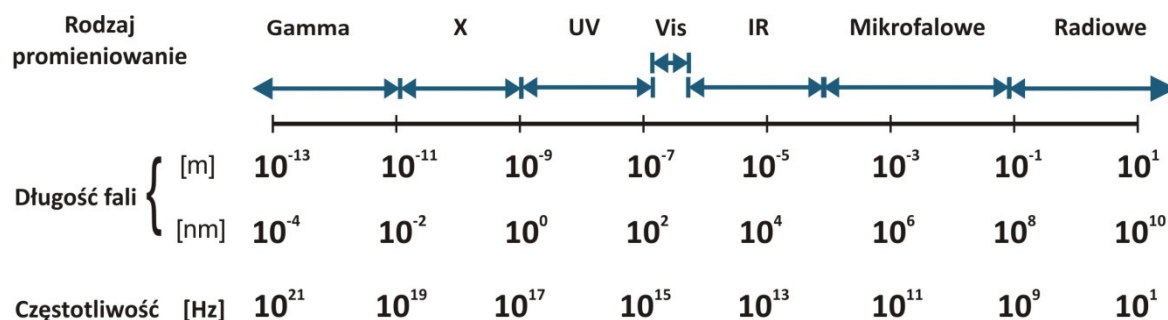
E - energia [J],

h - stała Plancka = $6,626 \times 10^{-34}$ Js.

Wykorzystując poprzednie równania, zależność Plancka może być przedstawiona w postaci łączącej falową (λ - długość fali, ν - częstość, $\bar{\nu}$ - liczba falowa) i korpuskularną (E - energia) naturę promieniowania elektromagnetycznego:

$$E = h\nu = h\frac{c}{\lambda} = h\bar{\nu}c \quad (3)$$

Szacunkowe zakresy długości fali poszczególnych rodzajów promieniowania przedstawione są na rysunku 2.



Rysunek. 2. Szacunkowe zakresy pasm fal elektromagnetycznych

1.1. Podział analitycznych metod spektroskopowych

Oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z materią może mieć różny charakter i towarzyszyć mu mogą różne procesy, w zależności od właściwości próbki i energii promieniowania.

Podstawą podziału analitycznych metod spektroskopowych mogą być m.in. następujące kryteria:

- rodzaj układu materialnego,
- formy wymiany energii,
- zakres długości fal (energia) promieniowania elektromagnetycznego.

Biorąc pod uwagę rodzaj układu materialnego wyróżnia się:

- **spektroskopię molekularną (cząsteczkową)** – badane są widma cząsteczkowe (widma rotacyjne, oscylacyjno-rotacyjne oraz elektronowo-oscyłacyjno-rotacyjne);
- **spektroskopię atomową** – badane są widma atomowe (widma o strukturze liniowej), powstające w wyniku przejść elektronu między różnymi stanami energetycznymi atomu;
- **spektroskopię jądrową** – badane są widma jądrowe, powstające na skutek absorpcji przez jądra atomów promieniowania elektromagnetycznego o częstości radiowej.

Na podstawie form wymiany energii można wyróżnić:

- **spektroskopię absorpcyjną** – badanie widm absorpcyjnych, czyli widm promieniowania elektromagnetycznego, które przeszło przez środowisko pochłaniające;
- **spektroskopię emisyjną** – badanie widm promieniowania elektromagnetycznego emitowanego przez dany układ;

- **spektroskopię Ramana** – badanie widm promieniowania elektromagnetycznego rozproszonego niesprężysto na cząsteczkach badanej substancji.

W tabeli 1 zestawiono podział metod spektroskopowych na podstawie zakresów długości fal promieniowania elektromagnetycznego wykorzystywanego w badaniach.

Tabela 1. Podział metod spektroskopowych na podstawie długości fal promieniowania elektromagnetycznego

Lp.	Rodzaj spektroskopii	Długość fali
1.	Spektroskopia kosmiczna	0,1-1,5 pm
2.	Spektroskopia gamma	0,03-30 pm
3.	Spektroskopia rentgenowska	0,001-1nm
3.	Spektroskopia optyczna – nadfiolet (UV)	10-380 nm
4.	Spektroskopia optyczna – zakres widzialny (Vis)	380-780 nm
5.	Spektroskopia optyczna – podczerwień (IR)	0,78-30000 μm
6.	Spektroskopia mikrofalowa	0,03-100 cm
7.	Spektroskopia w zakresie fal radiowych	1 cm – 4 km

2. Spektroskopia molekularna (cząsteczkowa)

2.1. Wstęp

Spektroskopia jest to zespół metod analitycznych, opartych na pomiarze natężenia promieniowania elektromagnetycznego o różnych długościach fali lub różnej energii, które ulega zmianom w wyniku oddziaływania z substancją oznaczaną. W spektroskopii molekularnej, oprócz energii związanej z emisją i absorpcją promieniowania związanego ze zmianą energii elektronów, dodatkowo należy uwzględnić energie związane z ruchem oscylacyjnym i rotacyjnym molekuł.

Ruch oscylacyjny – atomy wchodzące w skład molekuly drgają z określonymi częstotliwościami wzdłuż wiązań i w różnych kierunkach w stosunku do nich.

Ruch rotacyjny – obrót całej cząsteczki wokół osi przechodzącej przez środek jej masy.

Całkowita energia danej cząsteczki E może być przedstawiona w postaci sumy trzech energii:

- związanej z ruchem elektronów E_e ,
- związanej z oscylacjami cząsteczki E_o ,
- związanej z rotacją cząsteczki E_r .

$$E = E_e + E_o + E_r \quad (4)$$

Wielkość poszczególnych energii można schematycznie zapisać:

$$E_e \gg E_o > E_r$$

a po podstawieniu rzędów wartości odpowiadających poszczególnym rodzajom przejść energii można zapisać:

$$E_e : E_o : E_r = 1000 : 10 : 1$$

Różnice pomiędzy poziomami elektronowymi (ΔE_e) są rzędu kilku elektronowoltów (eV), pomiędzy poziomami oscylacyjnymi (ΔE_o) – to dziesiąte i setne części eV a pomiędzy poziomami rotacyjnymi (ΔE_r) mają wartość tysięcznych części elektronowoltów. Wyraźnie różna wartość energii związanej z powyżej opisanymi zmianami w atomie lub molekuale, jednoznacznie umiejscawia odpowiednie widma w różnych zakresach spektralnych. **Absorpcja promieniowania z zakresu najmniej energetycznego - dalekiej podczerwieni - powoduje zmiany energii rotacji cząsteczki**, czyli umożliwia obserwację widm rotacyjnych. Energia z tego zakresu jest za mała, na wywołanie przejść oscylacyjnych, a tym bardziej elektronowych. **Promieniowanie z zakresu bliskiej podczerwieni powoduje przejścia pomiędzy poziomami oscylacyjnymi**. Przejściom oscylacyjnym towarzyszą przejścia rotacyjne, co powoduje możliwość obserwacji widm oscylacyjno-rotacyjnych.

Do wywołania przejść elektronowych potrzebna jest energia promieniowania z zakresu UV-Vis. Towarzyszące tym przejściom zmiany energii rotacji i oscylacji powodują powstawanie widm elektronowo-oscyłacyjno-rotacyjnych.

2.2. Spektrofotometria absorpcyjna

W metodach spektrofotometrycznych wykorzystuje się zjawisko absorpcji promieniowania elektromagnetycznego.

Warunkiem wystąpienia absorpcji jest wartość energii padającego promieniowania, która musi odpowiadać różnicy poziomów elektronowych, oscylacyjnych lub rotacyjnych badanego związku.

Ze względu na długość fali wykorzystywanego promieniowania, spektrofotometrię absorpcyjną dzieli się na:

- spektrofotometrię w nadfiolecie (UV) – 200-380 nm,
- spektrofotometrię w świetle widzialnym (Vis) – 380-780 nm,
- spektrofotometrię w podczerwieni (IR) – 780 nm – 1 mm
 - podczerwień bliska – 0,78-5 μm ,
 - podczerwień średnia – 5-30 μm
 - podczerwień daleka – 30-1000 μm

Spektrofotometria w nadfiolecie i świetle widzialnym związana jest ze zmianą energii elektronowej cząsteczek, natomiast w spektrofotometrii w podczerwieni wykorzystywane są zmiany energii oscylacyjnej i rotacyjnej cząsteczek.

2.2.1. Prawa absorpcji

Cząsteczki badanej substancji znajdujące się w roztworze mają zdolność absorpcji (pochłaniania) promieniowania o określonej długości fali, przechodzącego przez badany roztwór. Nieabsorbowana część padającego promieniowania przechodzi przez badany roztwór oraz w mniejszym stopniu ulega rozproszeniu i odbiciu. W związku z tym, natężenie promieniowania padającego (I_0) można zapisać jako sumę:

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (5)$$

gdzie:

- I_0 – natężenie promieniowania padającego,
- I_a – natężenie promieniowania absorbowanego,
- I_t – natężenie promieniowania przechodzącego,
- I_r – natężenie promieniowania rozproszonego i odbitego.

W celu wyeliminowania promieniowania, które ulega odbiciu lub rozproszeniu, w pomiarach spektrofotometrycznych wykorzystuje się pomiar względem tzw. odnośnika, którym jest rozpuszczalnik lub ślepa próba.

I prawo absorpcji – prawo Lamberta

Natężenie promieniowania elektromagnetycznego po przejściu przez jednorodny ośrodek absorpcyjny o grubości l ulega osłabieniu zgodnie z równaniem:

$$I_t = I_0 e^{-kl} \quad (6)$$

gdzie:

- l – grubość jednorodnego ośrodka absorpcyjnego (warstwy roztworu),
- k – współczynnik absorpcji.

Po przekształceniu równanie przyjmuje postać:

$$\log \frac{I_0}{I_t} = kl = A \quad (7)$$

lub

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = al \quad (8)$$

gdzie:

- $a = 0,4343k$,
- A – **absorbancja**, czyli miara zdolności pochłaniania promieniowania.

Pierwsze prawo absorpcji (prawo Lamberta), opisujące zjawisko absorpcji promieniowania elektromagnetycznego, można więc wyrazić następującym, równoważnym sformułowaniem:

Absorbancja jest proporcjonalna do grubości warstwy absorbującej, jeśli wiązka promieniowania monochromatycznego przechodzi przez jednorodny ośrodek absorbujący.

Inną wielkością stosowaną do opisu zjawiska absorpcji promieniowania elektromagnetycznego jest **transmitancja T** . Jest to stosunek natężenia światła wychodzącego z danego ośrodka I_t to natężenia światła padającego I_0 :

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (9)$$

Transmitancja określa, jaka część promieniowania padającego jest przepuszczana przez roztwór i często wyrażana jest w %:

$$T = \frac{I_t}{I_0} 100\% \quad (10)$$

Po przekształceniu powyższych wzorów uzyskuje się zależność łączącą **absorbancję i transmitancję:**

$$A = \log \frac{1}{T} \quad (11)$$

II prawo absorpcji – prawo Lamberta-Beera

Analiza ilościowa w spektrofotometrii absorpcyjnej oparta jest na drugim prawie absorpcji (prawo Lamberta-Beera), które można sformułować następująco:

Jeżeli współczynnik absorpcji rozpuszczalnika jest równy zero, to absorbancja wiązki promieniowania monochromatycznego przechodzącej przez jednorodny roztwór jest proporcjonalna do stężenia roztworu c i do grubości warstwy absorbującej l .

Prawo Lamberta-Beera może być przedstawione za pomocą poniższej zależności:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = alc \quad (12)$$

III prawo absorpcji – prawo addytywności absorpcji

Dwa pierwsze omówione prawa odnoszą się do przypadku, kiedy w roztworze znajdowała się jedna substancja absorbująca. Trzecie prawo opisuje układ składający się z więcej niż jednego składnika absorbującego.

Absorbancja roztworu wieloskładnikowego równa się sumie absorbancji poszczególnych składników.

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad (13)$$

2.2.2. Spektrofotometria UV-Vis

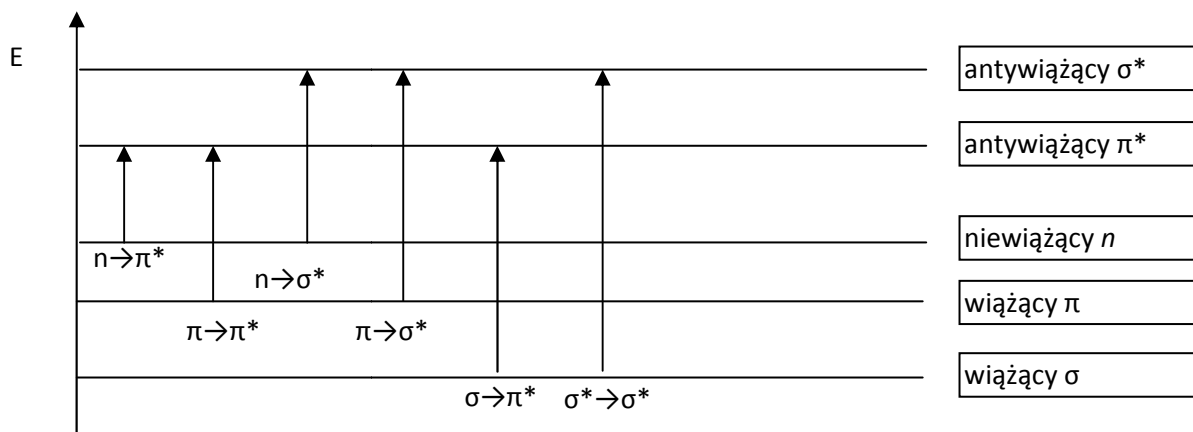
Jak wspomniano wcześniej, w spektrofotometrii UV-Vis wykorzystywane są widma elektronowe, powstające w wyniku przejść elektronów pomiędzy określonymi poziomami energetycznymi.

Wyróżnia się dwa rodzaje przejść elektronowych wykorzystywanych w spektrofotometrii UV-Vis:

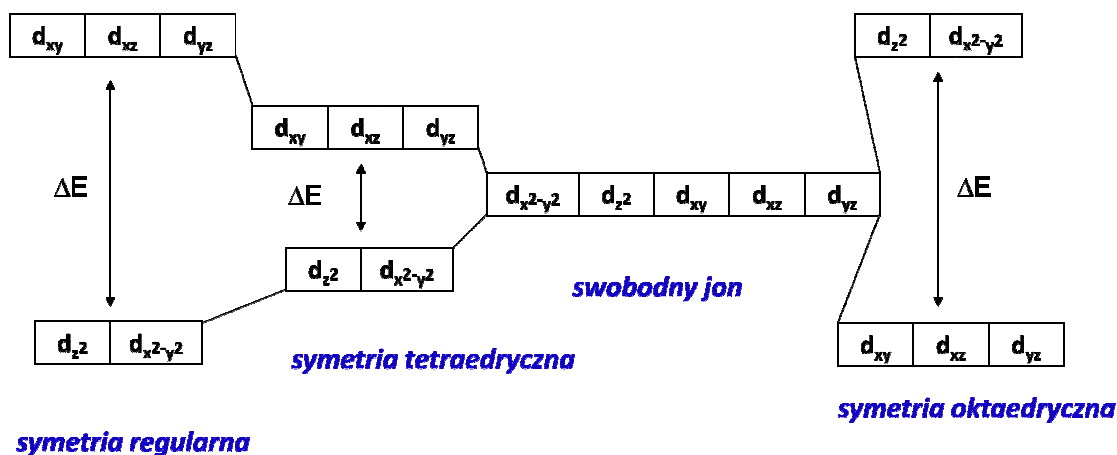
- w związkach organicznych jest to przeniesienie elektronów z orbitalu wiążącego lub

niewiążącego o niższej energii, na wolny orbital antywiążący o wyższej energii (rysunek 3),

- w kompleksach metali *d*-elektronowych jest to przeniesienie elektronów pomiędzy rozszczepionymi, różniącymi się energią, zdegenerowanymi orbitalami, powstałymi w wyniku tworzenia się kompleksów z ligandami (rysunek 4).

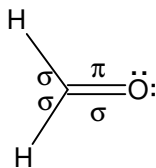


Rysunek 3. Rodzaje możliwych przejść elektronowych pomiędzy orbitalami w związkach organicznych



Rysunek 4. Rodzaje możliwych przejść elektronowych pomiędzy orbitalami w kompleksach metali *d*-elektronowych o różnej symetrii

Dla przykładu, na rysunku 5 przedstawiono rozkład orbitali cząsteczki metanal.



Rysunek 5. Orbitale występujące w cząsteczce metanal

W cząsteczce metanal znajdują się trzy orbitale wiążące σ ($1 \times \sigma_{C=O}$ i $2 \times \sigma_{C-H}$) jeden orbital wiążący $\pi_{C=O}$ oraz dwie wolne pary elektronowe n niebiorące udziału w wiązaniach. Z opisu budowy orbitali związków organicznych wynika, że **cząsteczka absorbuje promieniowanie UV-Vis, jeżeli występuje w niej element struktury, który umożliwia przejścia elektronowe typu $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ lub $n \rightarrow \sigma^*$** . Element taki nazywany jest **chromoforem**. Przykładowe chromofory zostały zestawione w tabeli 2.

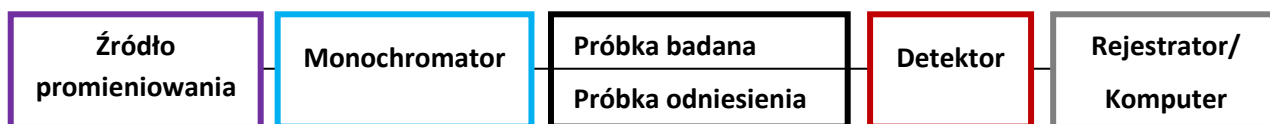
Tabela 2. Pasma absorpcji wybranych chromoforów

Chromofor	Przykładowy związek	Rodzaj przejścia	Długość fali w maksimum pasma [nm]
C=C	Eten	$\pi \rightarrow \pi^*$	171
C \equiv C	1-heksyn	$\pi \rightarrow \pi^*$	180
C=O	Etanal	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	290 180
N=O	Nitrometan	$n \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$	275 200
-Br	Bromek metylu	$n \rightarrow \sigma^*$	205
-Cl	Jodek metylu	$n \rightarrow \sigma^*$	255

Wielkość absorpcji zależy od charakteru **grup chromoforowych**, które znajdują się w cząsteczce. Jeden silny chromofor (np. grupa azowa) wystarczy, żeby substancja wykazywała dużą absorpcję, wystarczającą do ilościowych oznaczeń. Większa liczba grup chromoforowych, oprócz silnej absorpcji, powoduje również przesunięcie maksimum absorpcji w kierunku fal dłuższych (**przesunięcie batochromowe**). Podobny efekt daje obecność **grup auksochromowych** (niewywołujących barwy), które oddziałują na chromofory, zwiększając intensywność absorpcji oraz przesuwając maksimum absorpcji w kierunku fal długich. Do auksochromów należą m.in.: $-CH_3$, $-OH$, $-NH_2$, $-O-CH_3$.

2.2.2.1. Aparatura

Schemat blokowy spektrofotometru UV-Vis jest przedstawiony na rysunku 6.



Rysunek 6. Schemat blokowy spektrofotometru UV-Vis

Źródła promieniowania

W spektrofotometrii UV-Vis wykorzystuje się najczęściej źródła promieniowania, które pokrywają fragmenty lub cały zakres UV-Vis:

- **lampa deuterowa**, zakres nadfioletu (180-380 nm),

- **lampa wolframowa**, zakres światła widzialnego (powyżej 380 nm),
- **lampa ksenonowa**, pokrywająca cały zakres UV-Vis.

Monochromatory

Stosowane lampy emitują promieniowanie o szerokim zakresie długości fal, natomiast do analizowania danej substancji wykorzystuje się najczęściej jedną, określoną długość fali. Dlatego też niezbędne jest wykorzystanie monochromatora, który wycina wąskie pasmo o odpowiedniej długości fali. Jako monochromatory stosuje się **pryzmaty** lub **siatki dyfrakcyjne**.

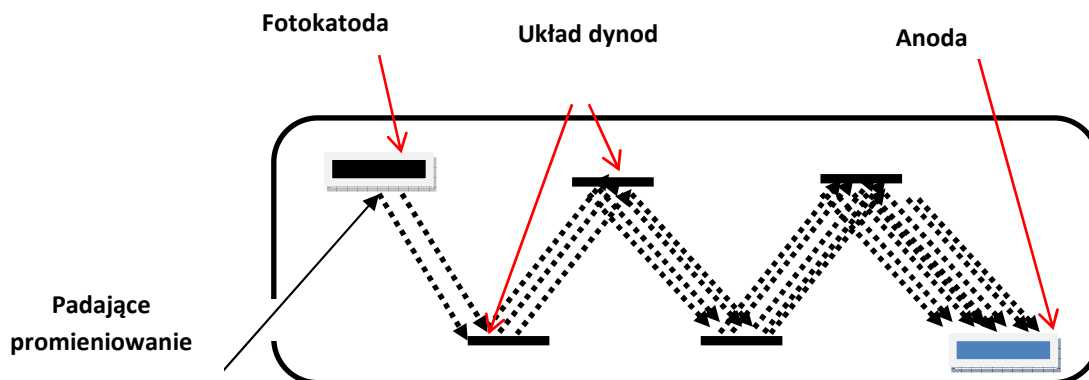
Pryzmaty są coraz rzadziej używane ze względu na kilka ich wad, z których najważniejszą jest niejednakowe rozszczepienie widma, mianowicie promieniowanie o większej długości fali jest gorzej rozszczepiane niż promieniowanie o mniejszej długości fali.

Siatki dyfrakcyjne są powszechnie używane ze względu na ich dobre właściwości rozszczepiające w całym zakresie widma UV-Vis. Siatkę dyfrakcyjną stanowi lustrzana powierzchnia, na której wygrawerowano dużą ilość równoległych linii.

W skład monochromatora wchodzi siatka dyfrakcyjna oraz zestaw szczelin i zwierciadeł o różnej geometrii, które są nazywane od ich twórców, np. monochromator Littrow'a, Ebert'a czy Czernego-Turner'a. W nowoczesnych spektrofotometrach UV-Vis często stosuje się monochromator zbudowany z dwóch siatek. Pierwsza z nich, o mniejszej rozdzielczości, wycina fragment widma, który następnie jest rozszczepiany z dużą rozdzielczością przez drugą z siatek.

Detektory

W nowoczesnej spektrofotometrii UV-Vis jako detektory wykorzystuje się **fotopowielacze** oraz **fotodiody**. W starszych modelach ciągle wykorzystywane są **fotokomórki**. Zasada działania fotopowielacza przedstawiona jest na rysunku 7. Foton padający na fotokatodę wybija z niej elektrony, które kierowane są na dynodę wywołując wybijanie kolejnych elektronów (wtórną emisję). Elektrony te, padając na następną dynodę wybijają kolejne elektrony. Przy założeniu, że każdy elektron wybija kilka elektronów z dynody, a w powielaczu zamontowany jest układ wielu dynod, w fotopowielaczu następuje wielokrotne wzmocnienie sygnału początkowego, do wartości umożliwiających jego pomiar.



Rysunek 7. Schemat fotopowielacza elektronowego

2.2.2.2. Wykorzystanie spektrofotometrii UV-Vis

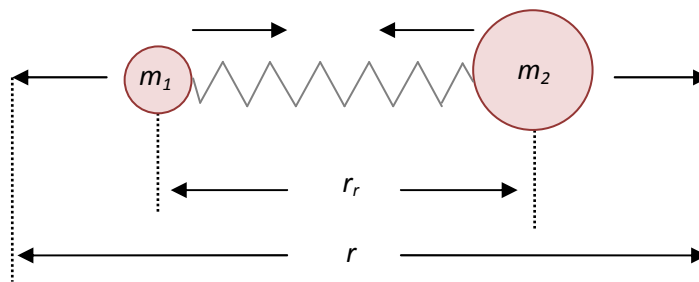
Technikę tę w niewielkim stopniu można wykorzystać do identyfikacji substancji, ze względu na stosunkowo małą ilość informacji uzyskiwanych z zarejestrowanych widm. Wynika to z faktu, że wiele substancji organicznych nie wykazuje absorpcji w zakresie UV-Vis, a jeżeli substancja absorbuje promieniowanie to obserwowane pasma na widmie są bardzo poszerzone (obraz jest wypadkową widm elektronowego, oscylacyjnego i rotacyjnego) i praktycznie niemożliwe do prawidłowej interpretacji. **Zdecydowanie większą rolę spektrofotometria UV-Vis odgrywa w badaniach ilościowych, w których jest najpowszechniej wykorzystywaną techniką spektrofotometryczną. Oznaczenia ilościowe można prowadzić bezpośrednio - dla substancji, które wykazują absorpcję w zakresie UV lub Vis albo pośrednio - po przeprowadzeniu substancji niewykazujących absorpcji w barwne kompleksy.**

Oznaczenia ilościowe wykonuje się najczęściej metodą krzywej kalibracyjnej, wykorzystując liniową zależność absorbancji od stężenia oznaczanej substancji [$A=f(c)$]. Należy przy tym pamiętać, że zakres liniowości jest ograniczony do małych stężeń i przy wyższych, wspomniana zależność przestaje być liniowa. **Odchylenia od liniowości**, zarówno dodatnie jak i ujemne, mogą być powodowane przez:

- **podstawowe ograniczenie praw absorpcji:**
 - liniowa zależność absorbancji od stężenia występuje tylko dla roztworów o $c < 10^{-2}$ mol/dm³, przy wyższych stężeniach występuje nieliniowa zależność współczynnika absorpcji ϵ od współczynnika załamania światła,
 - prawa absorpcji dotyczą tylko jednego rodzaju oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego z próbką – pochłaniania, nie bierze się pod uwagę emisji promieniowania, wywołanej przejściem elektronu z wyższego poziomu energetycznego na poziom niższy, która powoduje zaniżenie obserwowanej absorbancji;
- **czynniki chemiczne:**
 - występowanie substancji w formie monomerów lub polimerów w zależności od ich stężenia,
 - wpływ pH na zmianę stosunku występowania form danego analitu pod wpływem pH, np. stosunku ilościowego chromian/dichromian;
- **czynniki aparaturowe:**
 - brak monochromatyczności,
 - obecność promieniowania rozproszonego.

2.2.3. Spektrofotometria IR

Podstawą spektroskopii w podczerwieni (ang. *Infrared*, IR) jest absorpcja promieniowania z zakresu IR przez oscylujące cząsteczki. Do uproszczonego opisu oscylacji można wykorzystać oscylator harmoniczny. W najprostszym układzie, odpowiadającym cząsteczce dwuatomowej, **oscylator harmoniczny** zbudowany jest z dwóch kulek o masach m_1 i m_2 połączonych sprężyną o stałej siłowej f (rysunek 8).



Rysunek 8. Model oscylatora harmonicznego – drgania rozciągające dwóch atomów o masach m_1 i m_2

Działanie oscylatora harmonicznego, a zarazem cząsteczki dwuatomowej opisuje prawo Hook'a:

$$F = -fq \quad (14)$$

gdzie:

F - siła potrzebna do rozciągnięcia sprężyny (wiązania),

f – stała siłowa sprężyny (wiązania),

q – wielkość wychylenia; $q=r-r_r$ (r_r – długość sprężyny w stanie równowagi, r – długość rozciągniętej sprężyny).

Z prawa tego wynika, że siła potrzebna do rozciągnięcia sprężyny (wiązania) jest proporcjonalna do wielkości wychylenia. Po rozciągnięciu się sprężyny (oddaleniu się obu „kulek”) pojawi się siła działająca w kierunku przeciwnym, która spowoduje powrót rozpatrywanych kulek do stanu równowagi. Po przekroczeniu tego stanu nastąpi ściśnięcie sprężyny (wiązania) i pojawienie się siły powodującej rozciągnięcie sprężyny (wiązania).

Częstość drgań oscylatora harmonicznego, która zależy od stałej siłowej oraz mas rozpatrywanych kulek (atomów), można przedstawić za pomocą równań:

$$\nu_o = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{m_{zred}}} [\text{Hz}] \quad (15)$$

lub

$$\bar{\nu}_o = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{f}{m_{zred}}} [\text{cm}^{-1}] \quad (16)$$

gdzie:

ν_o – częstość drgań oscylatora harmonicznego,

m_{zred} - masa zredukowana wyrażana równaniem $m_{zred} = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$

Oscylacje atomów w cząsteczce mają charakter skwantowany, dlatego też wartości energii stanów oscylacyjnych E_o muszą uwzględniać kwantową liczbę spinową ν :

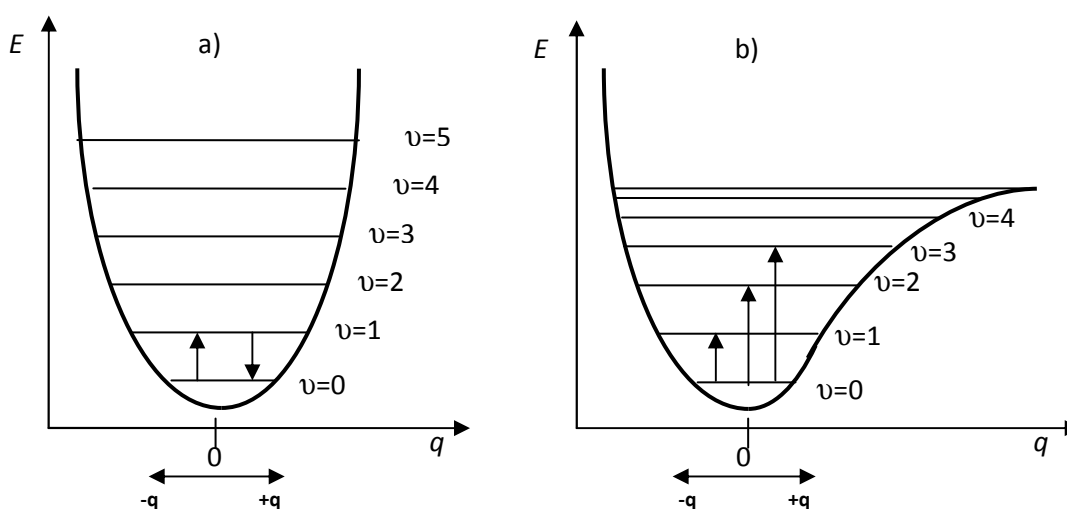
$$E_o = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{m_{zred}}} \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \quad (17)$$

gdzie:

ν - spinowa liczba kwantowa, przyjmująca wartości 0, 1, 2, ... n.

W przypadku oscylatora harmonicznego, różnice energetyczne pomiędzy poziomami oscylacji są równe, dlatego też widmo absorpcyjne lub emisyjne ma tylko jedno pasmo o określonej częstotliwości, niezależnie od tego, pomiędzy którymi poziomami oscylacji przejścia zachodzą. Należy przy tym pamiętać, że przejścia muszą spełniać regułę wyboru $\Delta v = \pm 1$.

Przedstawiony opis oscylatora harmonicznego nie najlepiej opisuje rzeczywistą oscylację w rzeczywistej molekuły. **W rzeczywistym oscylatorze cząsteczkowym siła potrzeba do rozciągnięcia wiązania nie jest proporcjonalna do wychylenia atomów.** W związku z tym, do opisu oscylacji zachodzących w molekułach stosuje się **oscylator anharmoniczny**. Zasadniczą różnicą pomiędzy modelem harmonicznym i anharmonicznym jest krzywa opisująca energię potencjalną w zależności od wychylenia atomów od stanu równowagi. W pierwszym przypadku krzywa ta ma kształt paraboli, natomiast w drugim, bardziej skomplikowanej krzywej Morse'a (rysunek 9).



Rysunek 9. Krzywe energii potencjalnej: a) oscylator harmoniczny, b) oscylator anharmoniczny

W oscylatorze anharmonicznym odległości pomiędzy poziomami oscylacyjnymi maleją w miarę wzrostu oscylacyjnej liczby kwantowej v . Ponadto możliwe są przejścia o więcej niż jeden poziom energetyczny, czyli $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \pm 3$ itd.

2.2.3.1. Aparatura

Schemat blokowy spektrofotometru IR jest przedstawiony na rysunku 10.



Rysunek 10. Schemat blokowy spektrofotometru IR

Źródła promieniowania

W spektrofotometrii IR w źródłach promieniowania najczęściej wykorzystuje się **globar** lub **włókno Nernsta**. **Globar** jest prętą wykonaną z węgla krzemowego, natomiast **włókno Nernsta** to pręt wykonany z tlenku cyrkonu z dodatkiem tlenków itru, toru lub ceru. Oba pręty podgrzane do temperatury 1000-1800 °C emitują promieniowanie z zakresu IR.

Monochromatory

Promieniowanie po przejściu przez próbkę musi ulec rozszczepieniu. W spektrofotometrii IR najpowszechniej wykorzystuje się siatki dyfrakcyjne, które zostały opisane w poprzednim podrozdziale.

Detektory

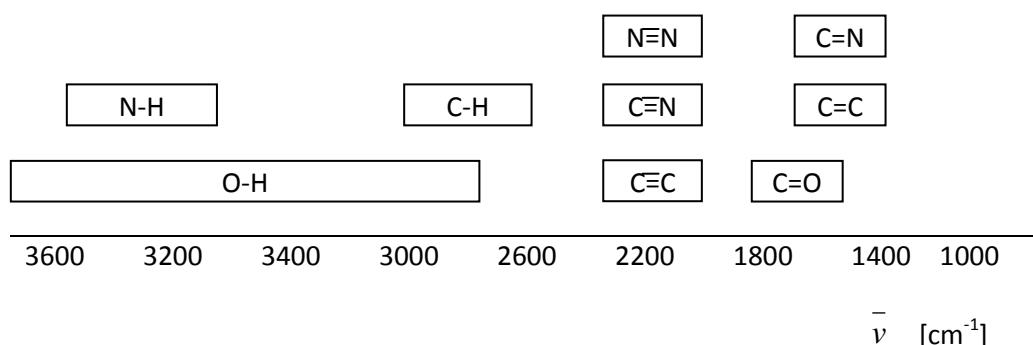
W spektrofotometrii IR wykorzystuje się detektory termiczne, które można podzielić na trzy grupy:

- termoelektryczne – **termopara**,
- termooporowe – **bolometr**,
- pneumatyczne – **komórka Golay'a**.

2.2.3.2. Wykorzystanie spektrofotometrii IR

Spektrofotometria IR jest podstawowym narzędziem badań w laboratoriach chemicznych i biologicznych. Jest wykorzystywana m.in. w laboratoriach przemysłowych, biochemicznych, medycznych, jak również do kontroli żywności oraz monitoringu środowiska i analizy zanieczyszczeń środowiska związkami organicznymi i nieorganicznymi. Technika ta jest wykorzystywana do:

- **identyfikacji związków chemicznych** na podstawie charakterystycznych pasm grup funkcyjnych, występujących w określonych regionach na widmie (rysunek 11),
- **oznaczania ilościowego** z wykorzystaniem praw absorpcji opisanych przy spektrofotometrii UV-Vis.



Rysunek 11. Zakresy częstości drgań (liczba falowa) charakterystycznych dla wybranych grup funkcyjnych związków organicznych

3. Spektrometria atomowa

3.1 Wstęp

Jak wspomniano wcześniej, spektrometria jest to zespół metod analitycznych opartych na pomiarze natężenia promieniowania elektromagnetycznego o różnych długościach fali lub o różnej energii.

W spektrometrii atomowej wykorzystuje się atomowe widma emisyjne lub absorpcyjne, które przeważnie są widmami liniowymi.

Do interpretacji widm atomowych i wyciągania z nich wniosków o charakterze analitycznym niezbędna jest znajomość budowy atomów, a zwłaszcza rozmieszczenie elektronów.

Każdy elektron znajdujący się w atomie opisywany jest przez 4 liczby kwantowe:

- **główna liczba kwantowa n** ($n=1,2,3,\dots$ - numeracja odpowiednich powłok K, L, M...) definiuje główny poziom energetyczny jądra,
- **poboczna (orbitalna) liczba kwantowa l** ($l=1,2,3,\dots,n-1$) opisuje podpowłoki s, p, d, f, ...,
- **magnetyczna liczba kwantowa m** (m przybiera wartości od l do $-l$),
- **spinowa liczba kwantowa s** (przyjmuje wartości $s=1/2$ lub $s=-1/2$).

Rozmieszczenie elektronów na odpowiednich powłokach musi spełniać dwa kryteria:

- orbitale obsadzone są przez elektrony według wzrastającej energii,
- obowiązuje zakaz Pauliego, czyli w atomie nie mogą się znajdować dwa elektrony mające takie same cztery liczby kwantowe, czyli elektrony muszą się różnić co najmniej jedną liczbą kwantową.

Rozmieszczenie elektronów na orbitalach zapisuje się schematycznie, gdzie cyfry opisują główną liczbę kwantową, litery poboczną liczbę kwantową, natomiast cyfry w indeksie górnym liczbę elektronów na danym orbitalu. Przykładowa konfiguracja elektronów dla atomu wodoru oraz sodu przedstawia się następująco:

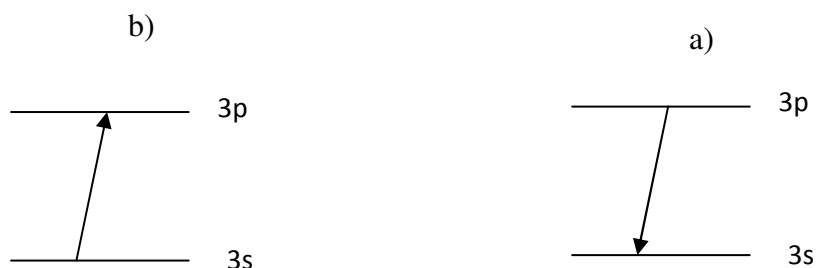
H: $1s^1$

Na: $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^1$

Absorpcja promieniowania elektromagnetycznego o określonej długości fali przez dany atom sodu powoduje przejście elektronu walencyjnego z poziomu podstawowego $3s^1$ na określony poziom wzbudzony, zaś emisja związana jest z przejście elektronu z poziomu wzbudzonego na poziom podstawowy.

Najniższy poziom, na który może być przeniesiony wzbudzony elektron ze stanu podstawowego nazywany jest poziomem rezonansowym, natomiast odpowiadająca mu linia spektralna (czyli sygnał liniowy, występujący przy danej długości fali) nazywana jest linią rezonansową.

W przypadku atomu sodu, wspomniane przejście rezonansowe elektronu walencyjnego obserwowane jest pomiędzy poziomami 3s i 3p. Przejście z poziomu 3s na wyższy poziom energetyczny 3p wymaga dostarczenia energii, więc związane jest z absorpcją promieniowania o określonej energii, natomiast powrót z poziomu wzbudzonego do poziomu podstawowego związany jest z emisją promieniowania o dokładnie takiej samej energii (rysunek 12).



Rysunek 12. Rezonansowe przejście elektronu walencyjnego w atomie sodu związane z: a) absorpcją promieniowania, b) emisją promieniowania

W związku z dużą liczbą poziomów energetycznych w atomach istnieje wiele możliwości przejść elektronowych. **W zakresie promieniowania UV-Vis opisanym przejściami podlegają tylko elektrony walencyjne.** O ile w przypadku sodu, posiadającego tylko jeden elektron walencyjny, schemat możliwych przejść absorpcyjno-emisyjnych jest względnie prosty, to w przypadku pierwiastków *d*-elektronowych schemat taki jest zdecydowanie bardziej złożony.

3.2. Absorpcyjna spektrometria atomowa

Absorpcyjna spektrometria atomowa (ang. *atomic absorption spectrometry*, AAS) jest oparta na zjawisku absorpcji promieniowania elektromagnetycznego przez swobodne atomy.

Podstawą AAS jest prawo promieniowania Kirchhoffa, zgodnie z którym atom absorbuje promieniowanie o takiej długości fali jaką emituje w stanie wzbudzonym.

Absorbancja jest proporcjonalna do liczby atomów w jednostce objętości (stężenia) oraz do grubości warstwy ośrodka absorbującego (długości drogi optycznej) i jest wyrażana jako:

$$A = \gamma \frac{N_p}{a} fl \quad (18)$$

gdzie: γ – stały współczynnik,
 N_p – liczba atomów w stanie podstawowym,
 f – moc oscylatora w danym przejściu,
 l – długość drogi, na której następuje absorpcja promieniowania,
 a – współczynnik zależny od szerokości i konturu linii.

W praktyce wykorzystywana jest liniowa zależność absorbancji od stężenia roztworu, ponieważ próbki badane najczęściej są w postaci roztworu a ilość atomów w stanie podstawowym jest proporcjonalna do stężenia badanego roztworu:

$$A = \epsilon_{\lambda} cl \quad (19)$$

gdzie:

ϵ_λ – molowy współczynnik absorpcji przy danej długości fali [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$],

c – molowe stężenie badanego roztworu [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$],

l – długość drogi, na której następuje absorpcja promieniowania[cm].

3.2.1. Aparatura

Spektrometr do absorpcji atomowej składa się z następujących elementów:

- źródło promieniowania,
- atomizer wraz z systemem wprowadzania próbki,
- monochromator,
- detektor,
- komputer/rejestrator.

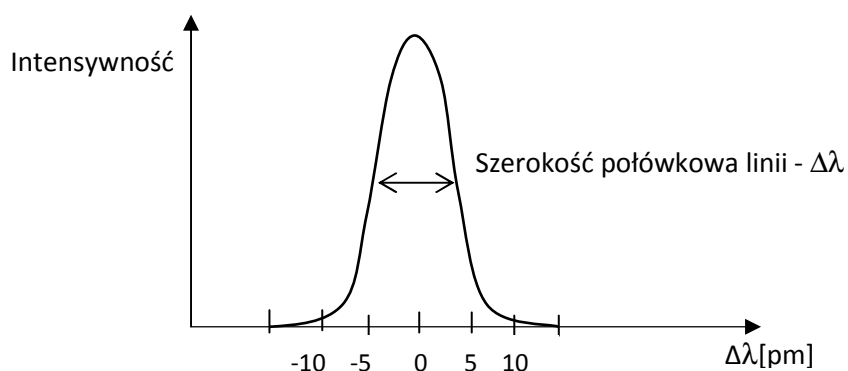
Blokowy schemat aparatu AAS jest przedstawiony na rysunku 13.



Rysunek 13. Schemat blokowy spektrometru do absorpcji atomowej

Źródła promieniowania

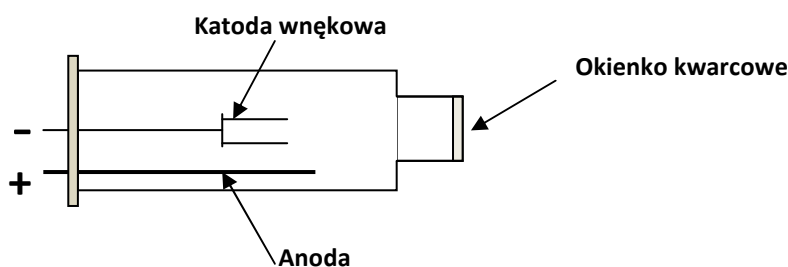
Źródło powinno emitować promieniowanie o dużej stabilności, możliwie dużym natężeniu i o małej szerokości połówkowej linii (rysunek 14). Jako źródła promieniowania wykorzystuje się najczęściej **lampy z katodą wnękową oraz lampy z wyładowaniem bezelektrowym.**



Rysunek 14. Schemat linii atomowej z zaznaczoną szerokością połówkową

Lampa z katodą wnękową (ang. *hollow cathode lamp*, HCL) jest kwarcowym lub szklanym cylindrem wypełnionym gazem szlachetnym (Ne, Ar) pod ciśnieniem kilku hPa (rysunek 15). W cylindrze znajduje się anoda wykonana z wolframu oraz **katoda wnękowa wykonana z metalu, który ma być oznaczany w danej analizie.** Po doprowadzeniu do elektrod odpowiedniego wysokiego napięcia (100-400 V) dochodzi do wyładowań, które powodują jonizację gazu. Powstałe dodatnie jony gazu

bombardują katodę, wybijając atomy metalu, które ulegają wzbudzeniu i emitują promieniowanie. **Promieniowanie wychodzące z lampy z katodą wewnętrzną składa się z linii charakterystycznych dla danego metalu, linii dla jonów tego metalu oraz linii charakterystycznych dla atomów gazu wypełniającego rurkę.** W związku z tym, do oznaczenia danego metalu potrzebna jest odrębna lampa z katodą zbudowaną z jego atomów. Rozwiązaniem tego problemu jest stosowanie lampy, której katoda zbudowana jest z wielu pierwiastków. Oczywiście, takie lampy charakteryzują się gorszymi parametrami pracy.



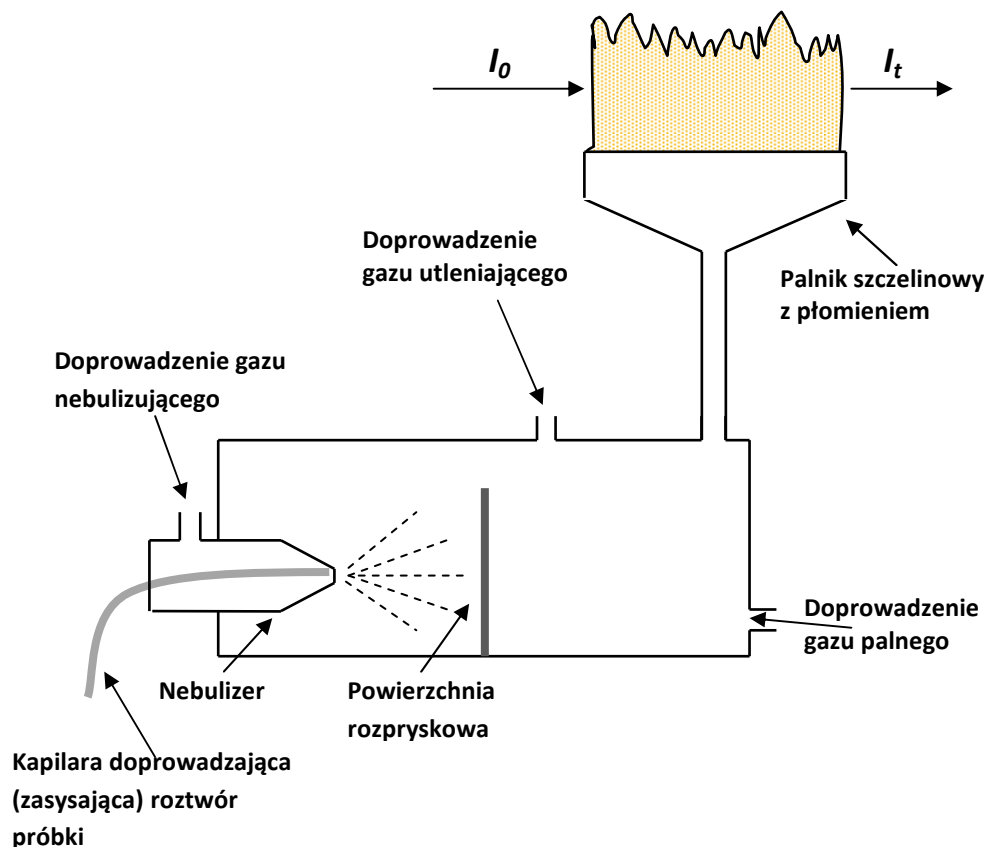
Rysunek 15. Schemat lampy z katodą wewnętrzną

Lampa z wyładowaniem bezelektrodowym (ang. *electrodeless discharge lamp*, EDL) wykorzystywana jest do analizy pierwiastków, dla których trudne jest zbudowanie lampy z katodą wewnętrzną (np. As, Sb, Se i Te). Lampa z wyładowaniem bezelektrodowym jest rurką kwarcową, wypełnioną gazem szlachetnym (Ne, Ar) pod zmniejszonym ciśnieniem, zawierającą niewielkie ilości oznaczanego pierwiastka (~1 mg) i umieszczoną w polu elektromagnetycznym. Pole elektromagnetyczne powoduje wzbudzenie atomów, które emitują promieniowanie charakterystyczne dla danego pierwiastka.

Atomizer

Oznaczone pierwiastki występują najczęściej w formie związków chemicznych, które należy przeprowadzić do postaci **wolnych atomów** przy wykorzystaniu tzw. **atomizera**. Atomizer powinien zapewnić proporcjonalność między stężeniem oznaczanego pierwiastka w badanej próbce a liczbą wytworzonych swobodnych atomów oraz cechować się dobrą wydajnością procesu atomizacji.

Atomizer płomieniowy (ang. *flame*, F => F-AAS), w którym proces atomizacji odbywa się w płomieniu (rysunek 16) jest pierwszym atomizerem wykorzystywanym w AAS. W celu uzyskania dużej wydajności procesu, analizowany roztwór jest **rozpylany (nebulizowany)** do płomienia palnika. **Etap nebulizacji jest bardzo istotny w metodach spektroskopii atomowej. Prawdopodobnie tego procesu ma istotny wpływ na granicę wykrywalności i precyzję oznaczania metody.** Rozpylane krople cieczy docierają do płomienia palnika (stożek wewnętrzny – świecąco-redukujący), który powstaje w wyniku spalania gazu palnego (acetyleny, gazu świetlnego lub propan-butanu) w gazie utleniającym (powietrze, tlen lub NO₂).



Rysunek 16. Schemat atomizera płomieniowego

W palniku zachodzi proces atomizacji, składający się z kilku szybko zachodzących po sobie etapów:

- **odparowanie rozpuszczalnika z roztworu próbki** – powstaje aerozol ciała stałe-gaz
 M^+A^- (mgła) \rightarrow MA (ciało stałe),
- **topienie i parowanie stałych cząsteczek** – powstają pary soli (MA)
 MA (ciało stałe) \rightarrow MA (ciecz) \rightarrow MA (para),
- **dysocjacja termiczna**,
 MA (para) \rightarrow M (gaz) + A (gaz)

Wytworzone w stożku wewnętrznym płomienia atomy nie są w równowadze termicznej, dlatego też część z nich ulega jonizacji, wzbudzeniu lub też w wyniku reakcji syntezy zostaje przeprowadzona w związki chemiczne. Procesy te są niekorzystne z punktu widzenia wydajności procesu atomizacji i powinny być ograniczane przez odpowiedni dobór parametrów palnika, np. temperatury, poprzez modyfikowanie składu doprowadzanych gazów.

Atomizer elektrotermiczny (ang. *electrothermal*, ET => ET-AAS) jest to najczęściej kuweta grafitowa znajdująca się w atmosferze gazu obojętnego (Ar), w której umieszczana jest analizowana próbka. Proces atomizacji składa się z trzech głównych etapów:

- **etap 1 – suszenie próbki** (100-200 °C; kilkadziesiąt sekund),
- **etap 2 – mineralizacja próbki** (500-1000 °C; kilkadziesiąt sekund),
- **etap 3 – odparowanie i atomizacja próbki** (1000-3000 °C; kilka sekund).

Zaletą atomizera elektrochemicznego w porównaniu z omawianym wcześniej atomizerem płomieniowym jest wyraźnie większa wydajność atomizacji oraz ograniczenie interferencji chemicznych i fizycznych. Poza tym, zwiększenie wykrywalności w analizach z wykorzystaniem atomizera elektrotermicznego można uzyskać dodając tzw. modyfikatory, które mogą zwiększyć lotność składników matrycy lub obniżyć lotność analitów.

Modyfikacja mająca na celu obniżenie granic wykrywalności obu opisanych wcześniej atomizerów polega na **generowaniu wodorków niektórych pierwiastków (As, Sb, Bi, Pb, Se, Sn), w wyniku reakcji z tzw. wodorem *in statu nascendi***. Modyfikacja ta umożliwia łatwe wydzielenie z matrycy czystych analitów w postaci lotnych wodorków i wprowadzenie ich do atomizera.

Monochromator

Zadaniem monochromatora jest „wydzielenie” linii rezonansowej z promieniowania elektromagnetycznego, które przeszło przez atomizer od innych linii emitowanych przez źródło promieniowania, zanieczyszczenia próbki i płomień palnika.

Detektor

Zadaniem detektora jest pomiar natężenia promieniowania (linii rezonansowej), które zmienia się w zależności od ilości swobodnych atomów w atomizerze, czyli od stężenia oznaczanego pierwiastka w badanym roztworze. Najczęściej detektorami są **fotopowielacze**.

3.2.2. Analiza ilościowa metodą AAS

Do ilościowych oznaczeń za pomocą AAS wykorzystywane są wcześniej poznane metody:

- **krzywej kalibracyjnej,**
- **dotatku wzorca,**
- **wzorca wewnętrznego.**

Podstawą oznaczeń ilościowych przy wykorzystaniu AAS jest wprost proporcjonalna zależność absorbancji od liczby swobodnych atomów wytworzonych w atomizerze, tym samym od stężenia oznaczanego pierwiastka w roztworze (równanie 19).

Podczas oznaczeń przy wykorzystaniu AAS należy pamiętać o zakłóceniach podczas pomiaru, które są powodowane przez obecność w badanym roztworze **substancji przeszkadzających**. Problemy z tym związane można podzielić na trzy grupy:

- **zakłócenia spektralne** – powstają w wyniku nakładania się linii pasm absorpcyjnych i emisyjnych,
- **zakłócenia fizyczne** – zmiany fizycznych właściwości roztworu,
- **zakłócenia chemiczne** – reakcje chemiczne zachodzące w płomieniu.

3.2.3. Zastosowanie AAS

Metoda jest wykorzystywana głównie do oznaczania pierwiastków metalicznych, które występują w ilościach śladowych w badanej próbce. Pomiary dokonuje się przeważnie dla próbek ciekłych, w

związku z tym analiza próbek stałych wymaga ich odpowiedniego przygotowania, polegającego na przeprowadzeniu oznaczanych substancji do roztworu.

Metoda była powszechnie wykorzystywana w laboratoriach ochrony środowiska, rolniczych, medycznych, biologicznych i geologicznych. Obecnie jest powoli zastępowana przez znacznie droższą, ale zdecydowanie lepszą, emisyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem za pomocą indukcyjnie sprzężonej plazmy (ang. *inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*, ICP – AES).

3.3. Emisyjna spektrometria atomowa

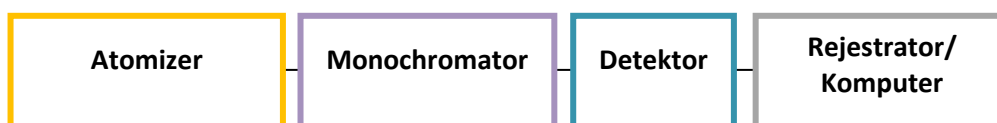
Emisyjna spektrometria atomowa (ang. *atomic emission spectrometry*, AES) jest oparta na analizie widm emisyjnych wysyłanych przez wzbudzone atomy. Jak wspomniano wcześniej widma atomowe mają charakter liniowy, ponieważ elektrony w atomie nie mogą mieć dowolnej energii, lecz tylko energię o określonej wielkości, wynikającej z liczb kwantowych. Emisja promieniowania zachodzi podczas przejścia elektronu ze stanu wzbudzonego na niższy poziom energetyczny. W atomie istnieje wiele poziomów energetycznych, które mogą być obsadzone przez elektrony po wzbudzeniu atomu. W związku z tym liczba możliwych linii emitowanych przez wzbudzony atom jest bardzo duża. Obserwacja wszystkich linii jest bardzo trudna, a wręcz niemożliwa. Dlatego **do badań ilościowych najczęściej stosuje się linie związane z przejściem elektronów do stanu podstawowego, czyli tzw. linie rezonansowe.**

Spośród kilku technik emisyjnej spektrometrii atomowej na uwagę zasługują dwie techniki różniące się sposobem wzbudzenia atomów:

- **fotometria płomieniowa,**
- **emisyjna spektrometria atomowa ze wzbudzeniem za pomocą indukcyjnie sprzężonej plazmy.**

3.3.1. Fotometria płomieniowa

Płomieniowa emisyjna spektrometria atomowa (ang. *flame atomic emission spectrometry*, F-AES) jest historycznie pierwszą emisyjną techniką spektrometrii atomowej. Spektrometr do fotometrii płomieniowej (rysunek 17) ma te same podzespoły, co omawiany wcześniej spektrometr AAS, z wyjątkiem źródła promieniowania.



Rysunek 17. Schemat blokowy spektroskopu do fotometrii płomieniowej

Aby przeprowadzić pomiar należy wprowadzić analizowaną substancję (próbkę) do atomizera poprzez **nebulizer**. W płomieniu palnika zachodzi atomizacja i wzbudzenie wytworzonych atomów, które następnie emitują charakterystyczne dla siebie widmo liniowe. Za pomocą monochromatora, z widma liniowego wybierane jest i kierowane do detektora promieniowanie o określonej długości fali, charakterystyczne dla oznaczanego pierwiastka.

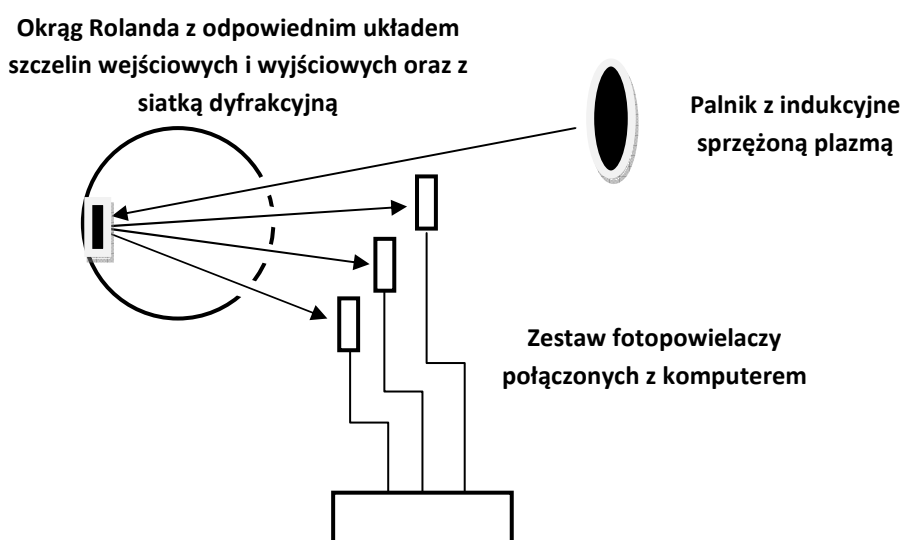
Technika ta znalazła zastosowanie w ilościowym oznaczaniu stosunkowo łatwo wzbudzanych pierwiastków (sód, wapń, potas) w roztworach wodnych (wody morskie, rzeczne, mineralne, płyny ustrojowe). Analizę ilościową przeprowadza się przy wykorzystaniu opisanych wcześniej metod analizy ilościowej.

3.3.2. Emisyjna spektrometria atomowa ze wzbudzeniem za pomocą indukcyjnie sprzężonej plazmy, ICP–AES

Wprowadzenie plazmowych źródeł wzbudzenia atomów (ang. *inductively coupled plasma*, ICP) znacząco poprawiło czułość i szybkość oznaczeń ilościowych wielu pierwiastków metodą emisyjnej spektrometrii atomowej (ang. *atomic emission spectrometry*, AES). Atomowy spektrometr emisyjny zbudowany jest z trzech zasadniczych elementów:

- atomizera,
- sortera,
- detektora (najczęściej fotopowielacza).

Próbka jest rozpryskiwana do wnętrza **palnika plazmowego**, w którym dochodzi do atomizacji i do wzbudzenia atomów. Następnie, wzbudzone atomy przechodząc w stan podstawowy emitują charakterystyczne dla siebie promieniowanie. Powszechnie wykorzystywana jest **plazma indukcyjnie sprzężona**, rzadziej **plazma wzbudzona mikrofalami** i **plazma prądu stałego**. Zastosowanie palnika plazmy indukcyjnie sprzężonej pozwala na osiągnięcie temperatury 6000-10000 K, co znacząco powiększa wydajność atomizacji i wzbudzenia, a co za tym idzie wpływa na zwiększenie czułości techniki. Emitowane promieniowanie elektromagnetyczne przechodzi do **sortera**, gdzie rozpraszane jest na siatce dyfrakcyjnej. Wybrane promieniowanie o określonej długości fali, charakterystyczne dla oznaczanego pierwiastka, dociera do fotopowielacza. Siatka dyfrakcyjna może być wbudowana w układ monochromatora, czyli „przepuszczać” promieniowanie o określonej długości fali lub może być wbudowana w **układ polichromatora** –okręgu Rowlanda z kilkoma szczelinami. Właściwie ułożone szczeliny w układzie polichromatora wraz z kilkoma odpowiednio ustawionymi fotopowielaczami umożliwiają oznaczanie wielu pierwiastków równocześnie (rysunek 18).



Rysunek 18. Schemat atomowego spektrometru emisyjnego z ICP jako atomizerem i z układem polichromatora

Metoda ICP – AES jest wykorzystywana we wszystkich dziedzinach, które wymagają oznaczenia pierwiastków śladowych.

Zalety techniki:

- możliwość oznaczania wielu pierwiastków w jednym roztworze w bardzo krótkim czasie,
- oznaczanie większości pierwiastków z układu okresowego na poziomie $\mu\text{L/L}$ z bardzo dużą dokładnością (+/- 2 %) i precyzją,
- wyeliminowanie większości interferencji charakterystycznych dla AAS, dzięki możliwości wybrania jednej z wielu linii charakterystycznych dla danego pierwiastka,
- prostoliniowy przebieg krzywej kalibracyjnej w zakresie 4-6 rzędów wielkości stężeń.

Wady techniki:

- duży koszt zakupu i utrzymania aparatury,
- możliwe interferencje powstające na skutek nakładania się linii, które mogą pochodzić od różnych pierwiastków (interpretacja widm złożonych mieszanin wymaga sporo uwagi, należy jednak tutaj wspomnieć, że analiza złożonych mieszanin za pomocą omawianej wcześniej AAS jest praktycznie niemożliwa).

W tabeli 3 zestawiony niektóre parametry trzech różnych technik spektroskopii atomowej.

Tabela 3. Porównanie technik spektroskopii atomowej

	AAS	ICP-AES	ICP-MS*
Limit detekcji [ng/g]	10-1000	0,01-10	0,000 01-0,0001
Zakres liniowości	10^2	10^5	10^8
Interferencje • spektralne • chemiczne	Bardzo małe Duże	Duże Bardzo małe	Małe Niewielkie
Szybkość oznaczania	4-5 pierwiastków/ min	5-30 pierwiastków/ min	Wszystkie pierwiastki w 2-5 min
Koszt zakupu aparatury	Niski	Wysoki	Bardzo wysoki
Koszt eksploatacji	Niski	Wysoki	Wysoki

*W metodzie ICP-MS (ang. *inductively coupled plasma mass spectrometry*), zamiast analizy promieniowania emitowanego przez elementy próbki wprowadzonej do plazmy, stosuje się separację jonów poszczególnych pierwiastków w oparciu o metody spektrometrii mas (MS). Podstawy spektrometrii mas opisane są w następnym podrozdziale.

4. Spektrometria mas

4.1. Wstęp

Spektrometria mas (MS) jest stosowana do identyfikacji związków organicznych oraz do ich oznaczeń ilościowych. Spektrometria mas w istotny sposób różni się od omówionych wcześniej technik spektroskopowych, w których obserwuje się absorpcję lub emisję promieniowania elektromagnetycznego przez analizowaną substancję.

W spektrometrii mas obojętne substancje są w pierwszym etapie jonizowane, następnie rozpadają się na mniejsze naładowane fragmenty, które są rozdzielane i identyfikowane na podstawie stosunku masy powstałych jonów do ich ładunku (m/z).

Spektrometria mas może być wykorzystywana jako niezależna technika analityczna, jednak zdecydowanie częściej jest używana w połączeniu z technikami chromatograficznymi do analizowania mieszanin. Substancje rozdzielane w kolumnie chromatograficznej kierowane są wraz z fazą ruchomą do spektrometru mas, gdzie następuje ich jonizacja i ewentualnie fragmentacja, natomiast identyfikacja poszczególnych związków potwierdzana jest na podstawie analizy zarejestrowanych widm mas.

Rejestracja ilości powstałych jonów (wielkości prądu jonowego) i wartości stosunku m/z poszczególnych jonów daje wynik analizy - widmo mas.

Uzyskiwane widma mas, a tym samym rodzaj informacji o związku, zależą przede wszystkim od sposobu jonizacji.

Widmo mas jest charakterystyczne dla określonego związku chemicznego oraz sposobu jonizacji i zawiera informacje o jego masie cząsteczkowej i budowie strukturalnej.

4.2. Sposoby jonizacji i aparatura

Niezależnie od sposobu jonizacji, spektrometry mas składają się zawsze z następujących, istotnych elementów:

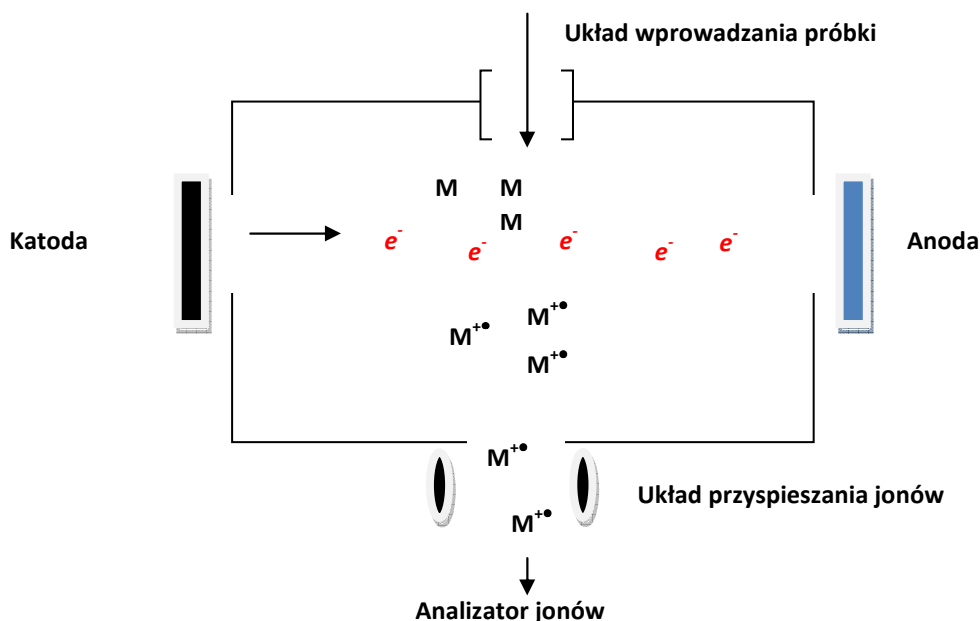
- układ wprowadzenia próbki (na przykład bezpośrednio wprowadzenie do komory jonizacyjnej lub poprzez chromatograf gazowy czy chromatograf ciekłowy),
- komora jonizacyjna (źródło jonów),
- analizator jonów,
- detektor jonów i rejestrator.

4.2.1. Jonizacja strumieniem elektronów, EI

Najczęściej w spektrometrii mas stosuje się jonizację strumieniem elektronów (ang. *electron impact*, EI). Jest to też jonizacja zwykle stosowana w spektrometrii mas połączonej z chromatografią gazową (GC/MS).

Jonizacja strumieniem elektronów, EI polega na bombardowaniu wiązką elektronów cząsteczek analizowanych związków, znajdujących się w stanie gazowym (pary) w komorze jonizacyjnej.

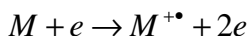
Jonizacja przebiega w próżni rzędu 10^{-6} do 10^{-5} Tr ($1,33 \cdot 10^{-4}$ ÷ $1,33 \cdot 10^{-3}$ Pa) (rysunek 19). Wiązka elektronów jest emitowana z katody wykonanej z trudno topliwych metali, wolframu lub renu oraz ogrzewanej prądowo do temperatury kilku tysięcy stopni. Energię elektronów można zmieniać poprzez zmianę napięcia między katodą a anodą, do której kierowana jest wiązka elektronów z katody. Najczęściej pomiary wykonuje się przy standardowej energii 70 eV. Strumień elektronów wchodzi w kolizję z cząsteczkami badanego związku będącymi w stanie pary.



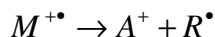
Rysunek 19. Schemat źródła jonów (komory jonizacyjnej) w jonizacji EI

W wyniku bombardowania wiązką elektronów cząsteczek substancji organicznej, będącej w stanie gazowym, powstają jony zwane molekularnymi $M^{+\bullet}$, które mogą rozpaść się, czyli fragmentować według różnych sposobów. Poniżej przedstawiono schemat procesu jonizacji i fragmentacji, który zawsze zaczyna się od powstawania jonu molekularnego:

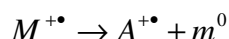
- jonizacja obojętnej cząsteczki M oraz powstawanie jonu molekularnego



- fragmentacja jonu molekularnego z utworzeniem jonu fragmentacyjnego parzystoelektronowego oraz rodnika



- fragmentacja jonu molekularnego z powstaniem jonu fragmentacyjnego nieparzystoelektronowego oraz cząsteczki obojętnej



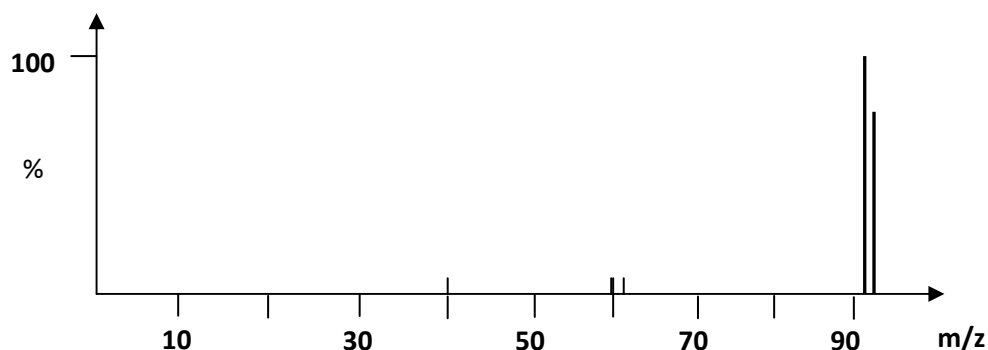
- jon fragmentacyjny nieparzystoelektronowy może dalej rozpaść się, tworząc jon parzysto- lub nieparzystoelektronowy, jak wyżej.

Jon molekularny jest kationorodnikiem o masie cząsteczkowej niemal identycznej jak masa cząsteczkowa związku chemicznego, z którego powstał. Pomijalna różnica masy wynika z utraty jednego elektronu z molekuly związku.

Powstałe w komorze jonizacyjnej jony są przyśpieszane polem elektrostatycznym o potencjale 6000-8000 V i następnie kierowane poprzez szczelinę ogniskującą do analizatora. W analizatorze strumień jonów zostaje rozdzielony według stosunku ich masy do ładunku (m/z) a następnie w detektorze następuje pomiar natężenia prądu jonowego, odpowiadającego rozdzielonym poszczególnym jonom. Wynikiem analizy MS jest **widmo mas**. Jeśli w układzie wprowadzania próbki jest chromatograf, widma mas są rejestrowane kolejno dla każdej substancji, eluującej się z kolumny chromatograficznej.

Widmo mas EI przedstawia względne intensywności jonów fragmentacyjnych oraz jonu molekularnego, uporządkowanych według stosunku ich masy do ładunku (m/z).

Widma mas przedstawiane są najczęściej w formie **wykresu** zależności intensywności sygnałów uporządkowanych według stosunku ich masy do ładunku (m/z) lub w formie **tabelarycznej**. Przy czym, **intensywność sygnałów na widmie jest normalizowana względem najwyższego sygnału, któremu przypisuje się wartość 100 %**. Schematyczne widmo toluenu ($M_{cz}=92$) przedstawione jest na rysunku 20, na którym zaznaczone dwa najbardziej intensywne sygnały $m/z=91$ (jon fragmentacyjny) i $m/z=92$ (jon molekularny, odpowiadający masie cząsteczkowej toluenu).



Rysunek 20. Schematyczne widmo toluenu

Fragmentacja jest procesem charakterystycznym dla każdego związku i dlatego widmo mas pozwala na jego identyfikację. Badaną substancję można zidentyfikować korzystając z **reguł fragmentacji** lub przez porównanie z widmami mas substancji wzorcowych, zebranych w **atlasach (katalogach) widm**. **Widmo mas EI zawiera informację, na jakie fragmenty rozpadł się badany związek**. Jego interpretacja przypomina pracę archeologa, który na podstawie zachowanych fragmentów stara się odtworzyć pierwotny kształt rozbitego naczynia.

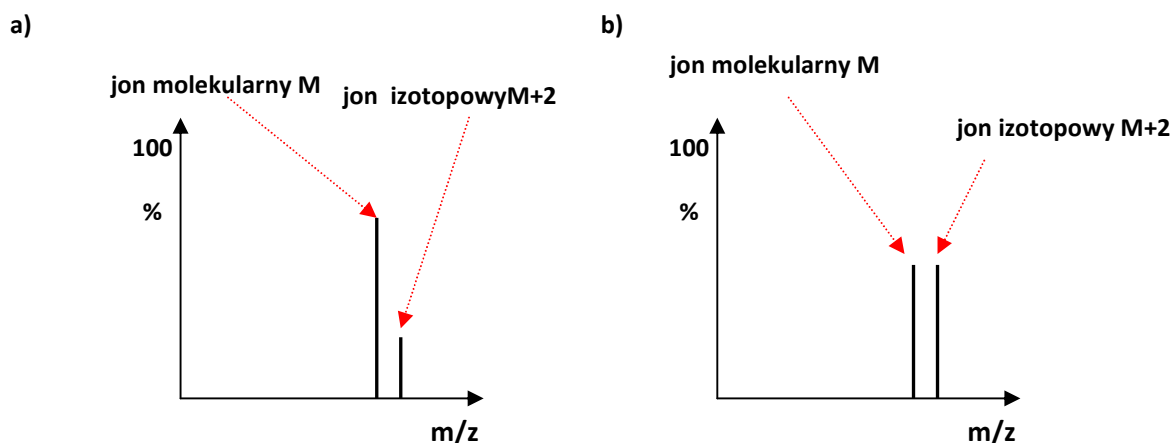
Jon molekularny odpowiada masie cząsteczkowej tych cząsteczek związku, które są zbudowane z najlżejszych izotopów pierwiastków, wchodzących w skład związku, np. z izotopów ^1H , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O , ^{32}S , ^{35}Cl i ^{79}Br .

Znalezienie jonu molekularnego pozwala na określenie masy cząsteczkowej analizowanego związku. Przy zastosowaniu innych technik jonizacji, takich jak jonizacja chemiczna pod ciśnieniem atmosferycznym czy jonizacja na drodze elektrorozpraszania, zamiast jonu molekularnego uzyskuje się **pozorne jony molekularne** (jony pseudomolekularne), z których również można obliczyć masę cząsteczkową analizowanego związku.

Większość pierwiastków zawiera dodatkowe izotopy, np. podstawowemu izotopowi węgla ^{12}C (98,931% rozpowszechnienia) towarzyszy izotop ^{13}C (1,069%). **Skład izotopowy pierwiastków jest praktycznie stały w naturze, co jest niezwykle cenną informacją przy interpretacji widm mas.** W badanej próbce, cząsteczki związków chemicznych są zbudowane z różnych izotopów danego pierwiastka. Powoduje to, że obok cząsteczek zbudowanych z najlżejszych izotopów pierwiastków wchodzących w skład danego związku chemicznego będą znajdować się też cząsteczki zbudowane również z cięższych izotopów, np. metan: $^{12}\text{C}^1\text{H}_4$ (masa cząsteczkowa 16 u) oraz $^{13}\text{C}^1\text{H}_4$ (17 u). W spektrometrze mas mierzone są dokładne masy jonów a więc te dwa typy cząsteczek będą rozróżnione i wystąpią na widmie mas jako dwa jony: m/z 16 i m/z 17.

Sygnaly w widmie mas odpowiadające jonom zawierającym cięższe izotopy nazywa się pikami izotopowymi. Piki izotopowe mają mniejszą intensywność w widmie mas niż piki molekularne, ze względu na mniejsze rozpowszechnienie cięższych izotopów.

Stosunek intensywności jonu molekularnego do piku izotopowego w widmie mas metanu wynosi jak 99 do 1. Jony izotopowe niektórych pierwiastków (np. chlor i brom) mogą być wykorzystywane do bardzo łatwej ich identyfikacji. Chlor posiada dwa izotopy – ^{35}Cl i ^{37}Cl , których naturalne rozpowszechnienie w przyrodzie jest w stosunku ok. 3 : 1, natomiast brom posiada również dwa izotopy – ^{79}Br i ^{81}Br , których naturalne rozpowszechnienie jest ok. 1 : 1. W związku z tym, widma związków zawierające po jednym atomie wspomnianych izotopów wyraźnie różnią się stosunkiem sygnału jonu molekularnego o masie M i jonu izotopowego o masie $M+2$ (rysunek 21).

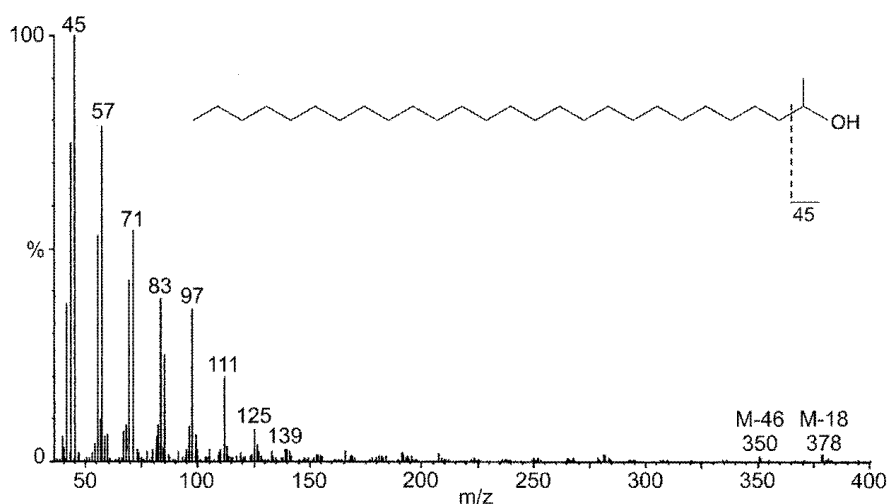


Rysunek 21. Schematyczny fragment widm mas przedstawiony dla związków zawierających jeden atom: a) chloru, b) bromu.

Przykładowe widmo mas EI jest zamieszczone na rysunku 22. Nie zawsze jon molekularny jest widoczny na widmie mas EI. Jeżeli dany związek chemiczny ulega silnej fragmentacji, to jon

molekularny może nie być intensywny lub może w ogóle nie występować. W takiej sytuacji określenie masy cząsteczkowej badanego związku nie jest możliwe i należy zmniejszyć energię jonizacji (ze standardowej 70 eV na niższą) lub zastosować inną metodę jonizacji. np. jonizację chemiczną.

Chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas (GC/MS) jest stosowana zarówno do identyfikacji składników analizowanych próbek jak i do oznaczania ilościowego poszczególnych związków. Obie techniki doskonale się uzupełniają. W technice GC/MS preferowane są kolumny kapilarne, ponieważ umożliwiają bezpośrednie wprowadzenie eluatu z kolumny do komory jonizacyjnej spektrometru. Gazem nośnym w technice GC/MS jest **hel**. Technika GC/MS z jonizacją strumieniem elektronów jest stosowana do analizy związków organicznych, które mogą być przeprowadzone w stan pary. Z tego względu badane substancje muszą wykazywać w temperaturze pokojowej lub po ogrzaniu prężność par, co najmniej 10^{-7} do 10^{-6} Tr ($1,33 \cdot 10^{-5}$ ÷ $1,33 \cdot 10^{-4}$ Pa). Jest to istotne ograniczenie tej metody, która nie może być zastosowana do analizy związków wielkocząsteczkowych bądź polarnych, takich jak aminokwasy, peptydy, białka, węglowodany czy związki jonowe.

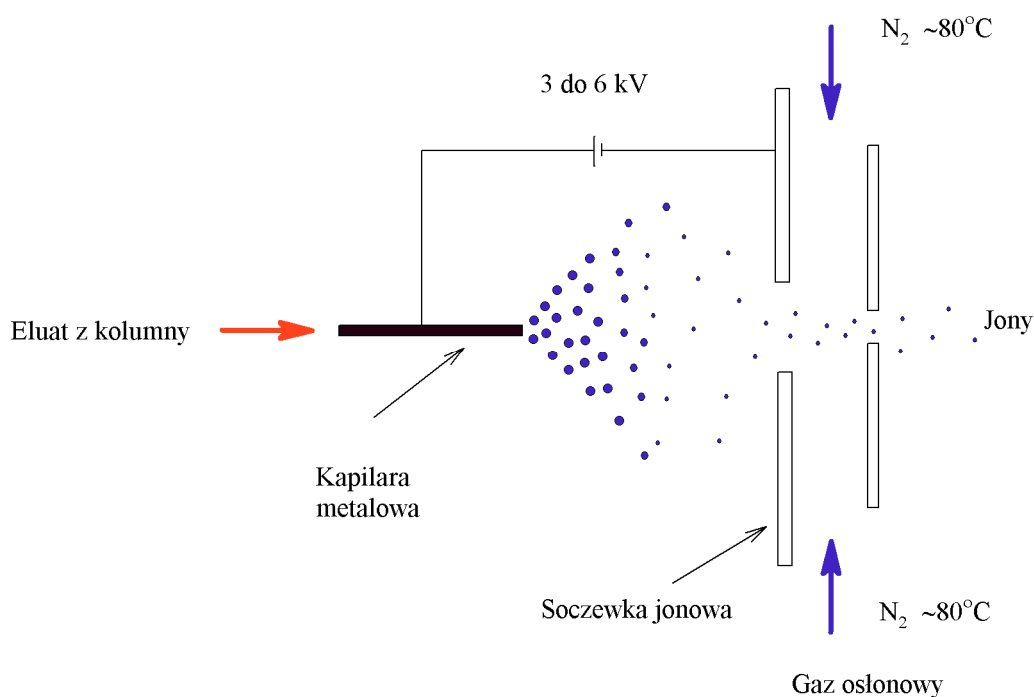


Rysunek 22. Widmo mas (EI) 2-heptakozanolu; jon molekularny 2-heptakozanolu ma niewielką intensywność i nie jest widoczny na zamieszczonym widmie mas natomiast widoczne są jony fragmentacyjne, w tym jon o wartości m/z 45, tzw. pik główny (podstawowy), który jest jonom o największej intensywności w widmie

4.2.2. Jonizacja na drodze elektrorozpraszania, ESI

Jedną z najpopularniejszych technik do oznaczania wielu związków organicznych w próbkach o złożonej matrycy jest spektrometria mas lub tandemowa spektrometria mas (MS/MS) w połączeniu z wysokosprawną chromatografią cieczą (LC/MS). Wśród wielu zalet tych technik, najważniejsza to możliwość analizy związków polarnych oraz wielkocząsteczkowych. W technice LC/MS analizy są rozdzielane w kolumnie chromatograficznej i z fazą ruchomą są wprowadzane do komory jonizacyjnej spektrometru mas. W technice LC/MS możliwe jest stosowanie źródła jonów typu ESI (ang. *electrospray ionization*) lub komory jonizacyjnej typu APCI (ang. *atmospheric pressure chemical ionization*). Jonizacja ESI jest najczęściej stosowaną techniką jonizacji związków polarnych. natomiast dla średniopolarnych i mniej polarnych związków bardziej odpowiednia jest technika APCI.

Jonizacja na drodze elektrorozpraszania, ESI polega na tym, że w silne pole elektryczne wprowadza się strumień cieczy (eluatu z kolumny chromatograficznej) pod ciśnieniem atmosferycznym (rysunek 23). Pole elektryczne jest wytwarzane poprzez przyłożenie napięcia 3–6 kV pomiędzy kapilarę a elektrodę. Następuje odparowywanie kropelek rozpuszczalnika, co powoduje wzrost gradientu potencjału przy powierzchni kropli i prowadzi w efekcie do desorpcji jonów z kropli. **Jonizacja ESI jest łagodną techniką jonizacji.** Widma mas ESI zawierają serie wielokrotnie **protonowanych pozornych jonów molekularnych** $[M + zH]^{z+}$. Jony z wieloma ładunkami są zaletą tej metody jonizacji. W spektrometrze mas mierzona jest wartość m/z , czyli wartość stosunku masy do ilości ładunków. Dzięki temu, cząsteczki związków o dużej masie cząsteczkowej wielokrotnie zjonizowane mają odpowiednio niższe wartości stosunku m/z . Na przykład, związek o masie cząsteczkowej 2000 u, tworzący jony z 4 ładunkami jest analizowany przy $m/z = 500$, co odpowiada masie cząsteczkowej podzielonej przez 4. Metodą ESI można analizować związki chemiczne o masie cząsteczkowej nawet rzędu 100–300 tys. u.



Rysunek 23. Schemat źródła jonów typu ESI [wg *Spektrometria mas.* de Hoffmann E. et al., 1998]

4.2.3. Jonizacja chemiczna pod ciśnieniem atmosferycznym, APCI

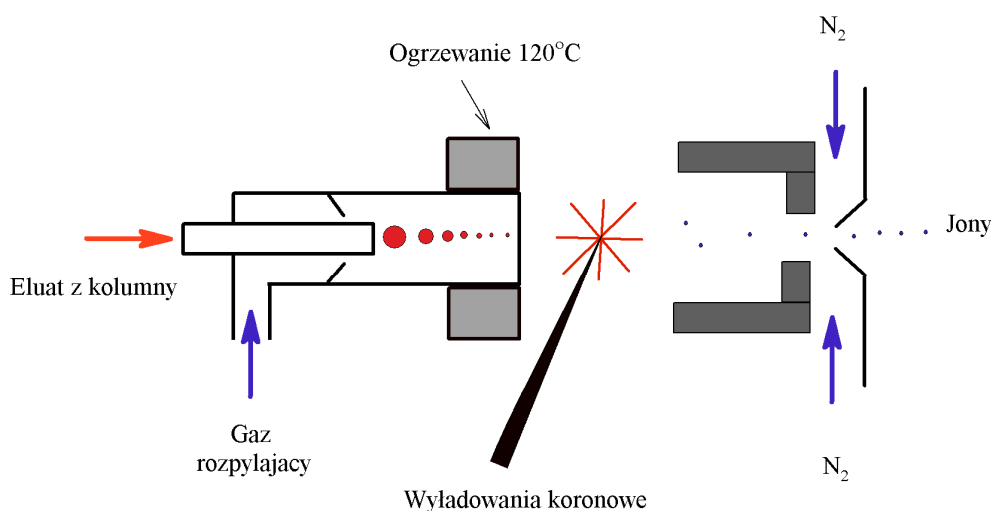
Technika jonizacji chemicznej pod ciśnieniem atmosferycznym, APCI jest odpowiednia dla związków średniopolarnych i mniej polarnych.

Źródło jonów APCI (rysunek 24) składa się z:

- **kapilary**, przez którą przepływa faza ruchoma z HPLC zamieniająca się w aerozol,
- **ogrzewanej rurki**,
- **igły wyładowawczej**, która produkuje jony z powstałego aerozolu.

APCI jest metodą jonizacji, w której zachodzi reakcja w fazie gazowej pod ciśnieniem atmosferycznym pomiędzy jodem pierwotnym a cząsteczką analitu. Jony pierwotne powstają ze składników fazy ruchomej poprzez wyładowania koronowe. Zaostrzona elektroda (igła

wyładowawcza) wytwarza gradient potencjału. Przy wyładowaniach koronowych powstałe napięcie jest wystarczające, aby medium uległo częściowej jonizacji natomiast za niskie, aby powstał łuk elektryczny. W atmosferze azotu i w obecności wody, pod wpływem wyładowań koronowych zachodzą reakcje, które prowadzą do powstania jonów pierwotnych. **Następnie powstają protonowane pozorne jony molekularne $[M + H]^+$, poprzez przeniesienie protonu z jonu pierwotnego do cząsteczki analitu.** Choć APCI jest łagodną techniką jonizacji, występująca niewielką fragmentacją cząsteczek można wykorzystać do badania struktury związku.



Rysunek 24. Schemat źródła jonów typu APCI [wg *Spektrometria mas.* de Hoffmann E. *et al.*, 1998]

4.2.4. Zastosowanie spektrometrii mas

Spektrometria mas w połączeniu z chromatografią gazową lub ciekłą jest najważniejszą i najszybciej rozwijającą się metodą do oznaczeń ilościowych i jakościowych praktycznie we wszystkich dziedzinach wymagających badań analitycznych.

Do podstawowych zastosowań spektrometrii mas należy:

- jakościowe i ilościowe oznaczenia śladowych ilości związków organicznych w różnych matrycach (woda, powietrze, gleba, leki, żywność) przy wykorzystaniu technik sprzężonych GC-MS lub HPLC-MS; powszechnie wykorzystuje się te techniki w analizach związanych z ochroną środowiska, jak np. oznaczanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, polichlorowanych bifenili, pozostałości pestycydów i leków oraz innych w próbkach powietrza, wody i gleby,
- jakościowe i ilościowe oznaczenia śladowych pierwiastków przy wykorzystaniu połączenia ICP-MS (spektrometria atomowa ze wzbudzeniem za pomocą indukcyjnie sprzężonej plazmy połączona ze spektrometrią mas),
- badanie struktury wyizolowanych ze środowiska lub zsyntezowanych związków organicznych; w zależności od zastosowanych sposobów jonizacji można badać zarówno molekuly o małej masie cząsteczkowej, jak i biopolimery o masie rzędu miliona u.

5. Literatura

1. Cygański, Z. *Metody spektroskopowe w chemii analitycznej*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2002.
2. de Hoffmann, E.; Charette J.; Stroobant V. *Spektrometria mas*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1998.
3. Downard, K. *Mass spectrometry: a foundation course*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2004.
4. Johnstone, R.A. W.; Rose M.E. *Spektrometria mas*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2001.
5. Kęcki, Z. *Podstawy spektroskopii molekularnej*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2002.
6. Kocjan, R. (red.) *Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL: Warszawa, 2000; Tom 2.
7. Zieliński, W.; Rajca, A. (red.) *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2000.
8. Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J. *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2007.
9. Suder, P.; Silberring, J. (red) *Spektrometria mas*; Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego: Kraków, 2006.
10. Szczepaniak, W. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2005.

VII. Elektrochemiczne metody analityczne

1. Wstęp

W metodach elektrochemicznych (inna nazwa to metody elektroanalityczne), do oznaczania substancji (analitów) w próbkach będących elektrolitami, wykorzystywane są efekty towarzyszące przepływowi prądu elektrycznego przez badany roztwór lub efekty zachodzące na elektrodach stykających się z badanym roztworem. Metody te służą zarówno do analizy ilościowej i jak i jakościowej i charakteryzują się dużą dokładnością, czułością i selektywnością.

Zjawiska obserwowane w metodach elektrochemicznych to przede wszystkim:

- **przewodnictwo elektryczne roztworów elektrolitów (metody konduktometryczne),**
- **wydzielanie elektrolityczne (metody analityczne, takie jak: elektrogravimetria, kulometria),**
- **zmiana potencjału elektrody wskaźnikowej (potencjometria),**
- **przepływ prądu pomiędzy elektrodami (polarografia, woltamperometria).**

W niniejszym rozdziale zostaną przedstawione dwie metody elektrochemiczne: potencjometria oraz konduktometria.

2. Potencjometria

2.1. Wprowadzenie

Jeśli dwa różne przewodniki (ciała stałe) umieści się w roztworze elektrolitu, zostanie utworzone **ogniwo** o określonej **sile elektromotorycznej (SEM)**, którą można zmierzyć łącząc przewodniki z woltomierzem. O SEM ogniwa decyduje przewodnik oraz skład jakościowy i ilościowy elektrolitu a jej pomiar może służyć do wyznaczania stężenia oznaczanego jonu w roztworze.

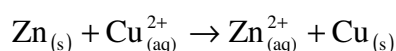
Wartość SEM ogniwa wynika z różnicy potencjałów **półogniw (elektrod)** tworzących ogniwo. Półogniwo (elektroda) jest to układ złożony ze stałego przewodnika, najczęściej metalu, zanurzonego w roztworze jonów (elektrolicie).

Potencjały elektrod (półogniw) zależą od aktywności jonów ściśle związanej z ich stężeniem, znajdujących się w badanym elektrolicie i od charakteru samorzutnych procesów elektrodowych.

Reakcje elektrodowe dotyczą przepływu ładunku elektrycznego z metalu do roztworu lub odwrotnie. Są to **chemiczne reakcje utleniania i redukcji**, np.:

- utlenianie $\text{Zn}_{(s)} \rightarrow \text{Zn}_{(aq)}^{2+} + 2e$
- redukcja $\text{Cu}_{(aq)}^{2+} + 2e \rightarrow \text{Cu}_{(s)}$

Sumaryczna reakcja może być zapisana w następujący sposób:



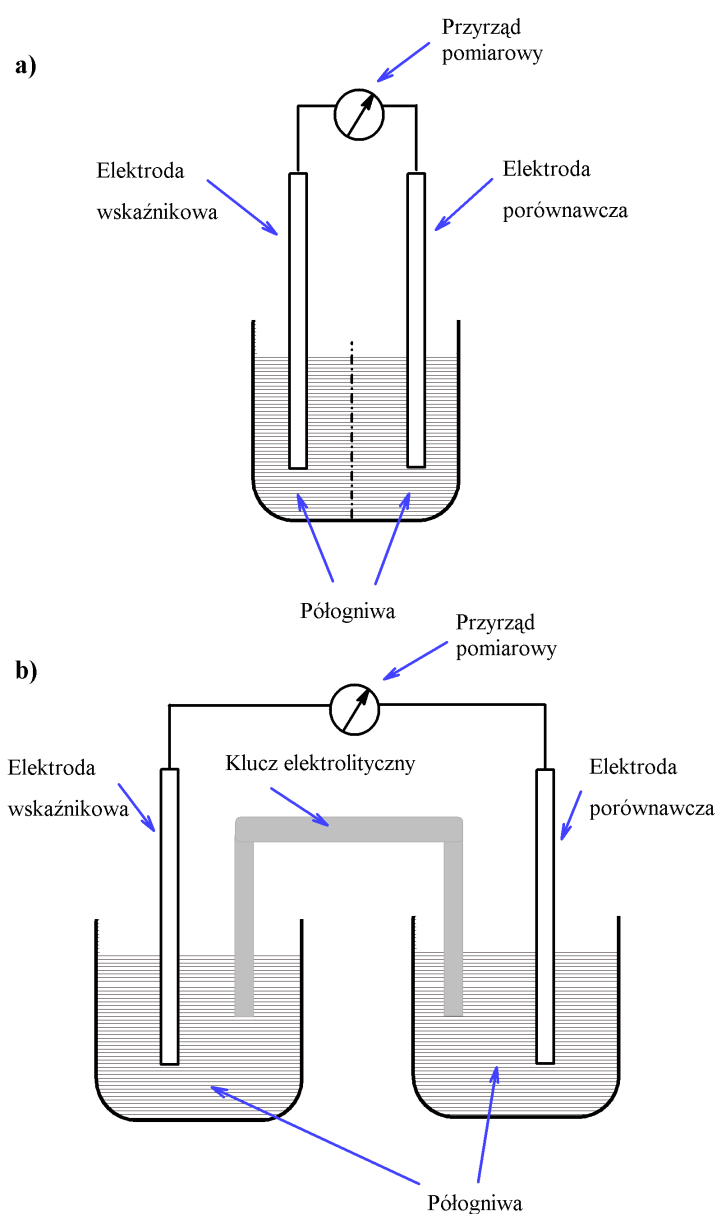
Takie samorzutne reakcje redox zachodzą w ogniwie zwanym galwanicznym. **Ogniwo galwaniczne składa się z dwóch półogniw, czyli z dwóch elektrod współpracujących z roztworem elektrolitu.** Elektrolit może być wspólny, ale częściej każda z elektrod jest zanurzona we własnym elektrolicie.

Oba elektrolity mogą być przedzielone półprzepuszczalną membraną, która zapobiega ich gwałtownemu zmieszaniu się i równocześnie umożliwia dyfuzję jonów (rysunek 1a). Elektrolity łączy się także za pomocą tzw. **klucza elektrolitycznego czyli odpowiedniego elektrolitu** (najczęściej KCl), umieszczonego w rurce w kształcie odwróconej litery U (rysunek 1b). **Ogniwa galwaniczne wykorzystuje się w pomiarach potencjometrycznych.**

Ciekawą prezentację w języku angielskim pokazującą działanie ogniwa galwanicznego możemy obejrzeć w Internecie:

<http://www.youtube.com/MarkRosengarten#p/c/81D400586C044127/127/rN5MENr8rT4>

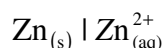
(dostęp 23.01.2011).



Rysunek 1. Schematy ogniw pomiarowych: a) bez klucza elektrolitycznego, b) z kluczem elektrolitycznym [wg Cygański A., *Podstawy metod elektroanalitycznych*, WNT, Warszawa, 1999]

Ogniwo składające się z dwóch półogniw, tzw. ogniwo Daniella (rysunek 2), to:

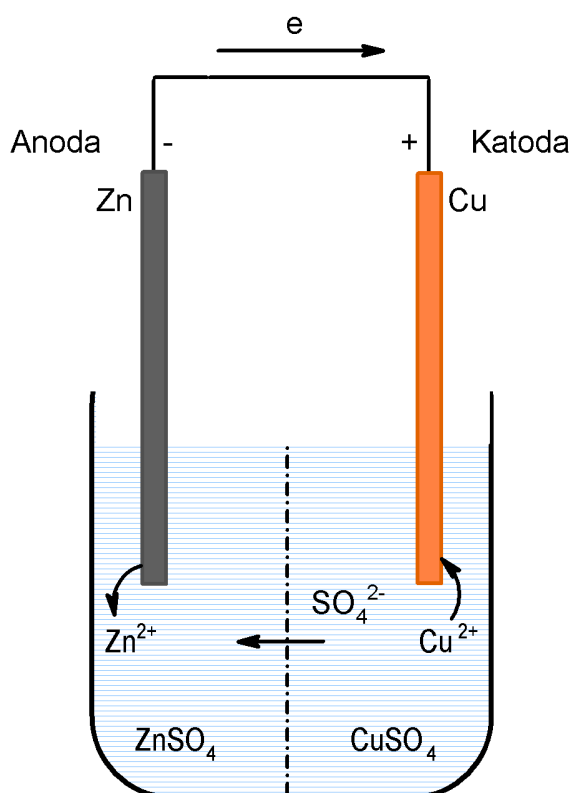
- elektroda cynkowa zanurzona w roztworze soli cynku: $Zn_{(s)} | Zn_{(aq)}^{2+}$



- oraz elektroda miedziana zanurzona w roztworze soli miedzi:



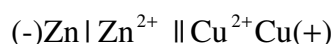
Roztwory elektrolitów są oddzielone półprzepuszczalną membraną, która umożliwia dyfuzję jonów lub są połączone kluczem elektrolitycznym. Na elektrodzie Zn/Zn^{2+} zajdzie reakcja utleniania, natomiast na elektrodzie Cu/Cu^{2+} – reakcja redukcji. Po połączeniu obu elektrod zewnętrznym przewodnikiem nastąpi przepływ elektronów z elektrody Zn/Zn^{2+} do Cu/Cu^{2+} , czyli popłynie prąd elektryczny. Elektrony uwalniane w procesie utleniania są zużywane w procesie redukcji. Jednocześnie następuje przepływ jonów SO_4^{2-} poprzez membranę półprzepuszczalną lub poprzez klucz elektrolityczny. Reakcję można zatrzymać przez rozłączenie elektrod.



Rysunek 2. Schemat ogniwa Daniella

Elektrodę, na której zachodzi proces utleniania nazywa się **anodą**, natomiast elektrodę, na której zachodzi proces redukcji – **katodą**.

Ogniwo zapisuje się skrótowo w następujący sposób:



W powyższym zapisie pojedyncze pionowe linie oznaczają granicę faz, natomiast linia podwójna oznacza klucz elektrolityczny. **Po lewej stronie zapisuje się półogniwo, na którym zachodzi utlenianie, po prawej to, na którym zachodzi redukcja. W ogniwie galwanicznym elektrony przepływają od anody do katody.**

Napięcie panujące pomiędzy dwoma elektrodami jest największe, jeżeli ogniwo w ogóle nie pracuje, natomiast spada tym silniej, im wyższe jest natężenie prądu pobieranego z ogniwa galwanicznego. Różnicę potencjałów dwóch elektrod tworzących niepracujące ogniwo nazywa się **siłą elektromotoryczną ogniwa (SEM, E[V])**. SEM ogniwa zapisuje się następującym równaniem:

$$E_{\text{ogniwa}} = \Delta V = E_{\text{katody}} - E_{\text{anody}} \quad (1)$$

Potencjały poszczególnych półogniw (elektrod) zależą od aktywności jonów, liczby elektronów biorących udział w reakcji elektrodowej oraz od temperatury.

Zależność potencjału półogniwa od aktywności jonów metalu w roztworze określa prawo Nernsta:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln a_{M^{n+}} \quad (2)$$

gdzie:

E – potencjał elektrody,

E^0 – standardowy potencjał elektrody (inna nazwa: normalny potencjał elektrody), potencjał elektrody wyznaczony w temperaturze 298 K w roztworze, w którym aktywność jonów metalu $a_{M^{n+}}$ równa jest 1 mol/L,

R – stała gazowa równa 8,314 J/K·mol,

T – temperatura bezwzględna [K],

F – stała Faradaya równa 96486,7 C/mol,

n – liczba elektronów biorących udział w reakcji,

$a_{M^{n+}}$ - aktywność jonów metalu w roztworze.

Wzór Nernsta można uprościć, podstawiając wartości liczbowe stałych fizykochemicznych (temperatura 25°C) oraz zamieniając logarytmy naturalne na logarytmy dziesiętne. Otrzymuje się wówczas następującą zależność:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{n} \log a_{M^{n+}} \quad (3)$$

Aktywność jonów jest równa ich stężeniu w roztworach rozcieńczonych. W takich warunkach uproszczony wzór Nernsta ma następującą postać (wersja dla kationów):

$$E = E^0 + \frac{0,059}{n} \log c_{M^{n+}} \quad (4)$$

gdzie:

$c_{M^{n+}}$ - stężenie kationów w roztworze.

Uproszczony wzór Nernsta dla anionów ma następującą postać:

$$E = E^0 - \frac{0,059}{n} \log c_{A^{n-}} \quad (5)$$

gdzie:

$c_{A^{n-}}$ - stężenie anionów w roztworze.

Nie jest możliwe wykonanie pomiaru potencjału pojedynczej elektrody względem roztworu. Można natomiast zmierzyć różnicę potencjałów dwóch elektrod tworzących wspólnie ogniwo.

Takie ogniwo jest zbudowane z:

- elektrody wskaźnikowej, której potencjał zależy od stężenia oznaczanego jonu,
- elektrody porównawczej, której potencjał ma wartość stałą.

2.2. Elektrody stosowane w potencjometrii

Układ do badań potencjometrycznych to ogniwo (rysunek 1) zbudowane z elektrody wskaźnikowej i porównawczej, będących w kontakcie elektrycznym z badanym roztworem (zanurzonych w badanym roztworze) oraz odpowiedni miernik, czyli potencjometr, pozwalający na pomiar siły elektromotorycznej ogniwa.

Elektroda porównawcza ma stały potencjał określony umownie, co oznacza, że jej potencjał nie zależy od stężenia jonów badanych. Powszechnie stosowane elektrody porównawcze to elektroda chlorosrebrowa i elektroda kalomelowa, które nie zmieniają swojego potencjału przy stałym stężeniu jonów chlorkowych.

Elektrody dzieli się na kilka rodzajów ze względu na mechanizm zachodzących na nich reakcji elektrodowych, w tym na elektrody pierwszego rodzaju, elektrody drugiego rodzaju oraz elektrody jonoselektywne.

Elektrody pierwszego rodzaju – elektrody odwracalne względem kationu lub odwracalne względem anionu

Elektrody odwracalne względem anionu mają małe znaczenie. Typowe elektrody odwracalne względem kationu są zbudowane z metalu (lub gazu tak jak elektroda wodorowa) i zanurzone w roztworze własnych jonów. Kation po redukcji do metalu może być odtworzony w wyniku utleniania metalu. Takie elektrody przedstawia się skrótowo w następujący sposób:



Reakcja zachodząca na elektrodach odwracalnych względem kationu jest następująca:



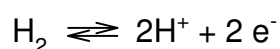
Elektrodą odwracalną względem kationu jest również elektroda wodorowa, którą stanowi układ gaz-kation ($H_2/2H^+$).

Standardowa elektroda wodorowa

Potencjały elektrod porównuje się do elektrody standardowej, czyli wzorcowej, której potencjał umownie przyjmuje się za zerowy. Elektrodą taką jest tzw. **standardowa elektroda wodorowa** (inna nazwa: normalna elektroda wodorowa), w której stężenie jonów wodorowych jest równe 1 mol/L.

$$\text{Standardowy potencjał elektrody wodorowej } E_H^0 = 0.$$

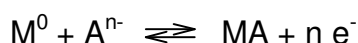
Standardowa elektroda wodorowa jest zbudowana z blaszki platynowej zanurzonej w roztworze elektrolitu nasyconego gazowym wodorem. W takim ogniwie wodorowym ustala się następująca równowaga:



Potencjał półogniwa wodorowego jest równy zero, gdy do roztworu zawierającego jony wodorowe o stężeniu 1 mol/L prowadzany jest gazowy wodór pod ciśnieniem 1013 hPa. Potencjały standardowe innych elektrod wyznacza się względem standardowej elektrody wodorowej w temp. 25°C i przy aktywności jonów czynnych 1 mol/L, natomiast sama elektroda wodorowa nie jest stosowana w praktyce laboratoryjnej do oznaczania pH roztworów z uwagi na niewygodę w użyciu.

Elektrody drugiego rodzaju – elektrody odwracalne względem wspólnego anionu

Elektrody tego typu są zbudowane z metalu pokrytego trudno rozpuszczalną solą tegoż metalu i zanurzone w roztworze dobrze rozpuszczalnej soli zawierającej wspólny anion z solą trudno rozpuszczalną. Reakcja zachodząca na elektrodzie drugiego rodzaju jest następująca:



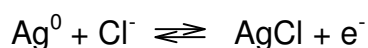
Taką elektrodę przedstawia się skrótowo w następujący sposób:



Stosowane często w potencjometrii jako elektrody porównawcze: elektroda chlorosrebrowa i elektroda kalomelowa są elektrodami drugiego rodzaju.

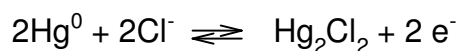
Elektroda chlorosrebrowa: Ag, AgCl|KCl

Elektroda chlorosrebrowa: Ag, AgCl|KCl zbudowana jest z drutu srebrnego pokrytego AgCl i zanurzonego w roztworze zawierającym chlorki. Elektroda chlorosrebrowa może pełnić rolę elektrody odniesienia, ponieważ w roztworze jonów chlorkowych o stałej aktywności potencjał tej elektrody ma stałą wartość. Reakcje elektrodowe zachodzące na elektrodzie można przedstawić następującym równaniem:



Elektroda kalomelowa: Hg, Hg₂Cl₂ | KCl

Elektroda kalomelowa jest powszechnie stosowana jako elektroda porównawcza, na przykład w pehametrach. Najczęściej stosowana jest nasycona elektroda kalomelowa (NasEK, NEK). Nasycona elektroda kalomelowa jest zbudowana ze szklanej banieczki, w której dno jest wtopiony drucik platynowy wyprowadzony na zewnątrz. W bańce szklanej znajduje się rtęć, pokryta warstwą pasty kalomelowej (Hg₂Cl₂) i zalana nasyconym roztworem KCl. Reakcje elektrodowe zachodzące na elektrodzie można przedstawić następującym równaniem:



Elektrody jonoselektywne

Elektrody jonoselektywne (oznaczane skrótem ISE) należą do **grupy elektrod wskaźnikowych**, czyli **reagują zmianą potencjału na obecność w roztworze badanych jonów**. Potencjał elektrody wskaźnikowej zależy od aktywności (a więc w przybliżeniu również od stężenia) jonów w roztworze, w którym się znajduje; jest to **zależność liniowa od logarytmu aktywności jonów**, na które są czułe. W stosowanych elektrodach jonoselektywnych liniowa zależność utrzymuje się w zakresie 3-4 rzędów stężenia oznaczanych jonów. Elektrody jonoselektywne są zaopatrzone w membranę jonowymienną, która oddziela półogniwo od badanego roztworu. Membrana jest wrażliwa na aktywność określonych jonów. Potencjał elektrody jonoselektywnej składa się:

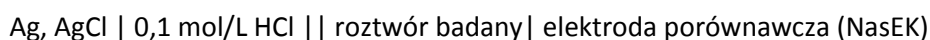
- z potencjału międzyfazowego na granicy faz membrana - roztwór, spowodowanego wymianą jonową pomiędzy jonami z membrany a jonami z roztworu,
- z potencjału dyfuzyjnego, spowodowanego procesami zachodzącymi w membranie.

Elektrody jonoselektywne dzieli się na kilka rodzajów ze względu na stan skupienia stosowanej membrany:

- elektrody o stałych membranach – elektrody szklane oraz elektrody krystaliczne,
- elektrody o ciekłych membranach – elektrody zawierające kationity, anionity lub związki makrocycliczne,
- elektrody z podwójnymi membranami (tzw. uczulane) – elektrody enzymatyczne lub gazowe.

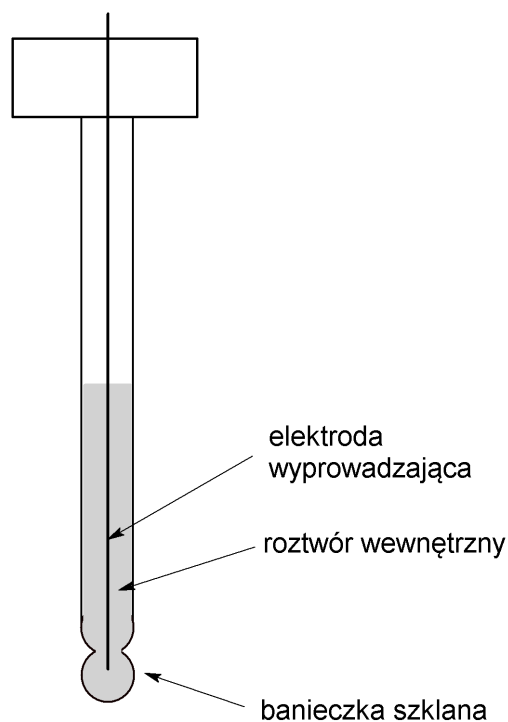
Najbardziej popularną i jednocześnie najstarszą elektrodą jonoselektywną jest **elektroda szklana**. Pierwszą elektrodę szklaną skonstruował Polak Z.A. Klemensiewicz (1886-1963). Klasyczna elektroda szklana składa się z bańki ze szkła elektrodowego umieszczonej na końcu rurki szklanej (rysunek 3). W środku rurki znajduje się roztwór o określonej i stałej aktywności jonów, względem których jest odwracalna. (najczęściej jest to 0,1 M HCl). W roztworze tym zanurzona jest elektroda wyprowadzająca, którą jest elektroda chlorosrebrowa Ag, AgCl.

Elektroda szklana (elektroda wskaźnikowa) w zestawie z elektrodą porównawczą (np. kalomelową) tworzą razem następujące ogniwo:



W powyższym zapisie linia podwójna oznacza membranę szklaną.

Potencjał elektrody szklanej zależy od stężenia jonów wodorowych H^+ lub innych kationów jednowartościowych (Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+) w roztworze badanym. Dobierając odpowiednio rodzaj szkła, z którego zbudowana jest szklana membrana można uzyskać elektrody czułe na określone kationy. Najczęściej stosuje się elektrody szklane do oznaczania pH. Elektrody szklane są wrażliwe na zniszczenia mechaniczne oraz na stężone kwasy i zasady. Powinno się je przechowywać zanurzone w wodzie destylowanej.



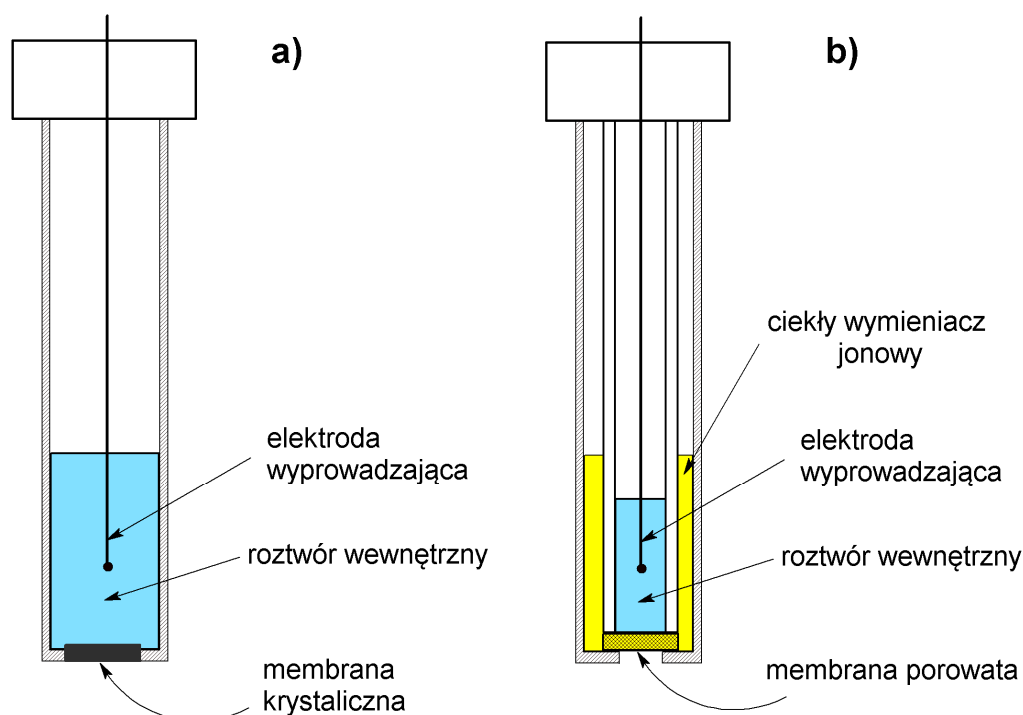
Rysunek 3. Schemat elektrody szklanej [wg Cygański A., *Podstawy metod elektroanalitycznych*, WNT, Warszawa, 1999]

Znane są różne rozwiązania konstrukcyjne elektrod szklanych. Bardzo często stosuje się tzw. **elektrodę kombinowaną**, która we wspólnej obudowie zawiera elektrodę szklaną połączoną z elektrodą odniesienia. **Zanurzając taką elektrodę w roztworze badanym uzyskuje się ogniwo pomiarowe służące do pomiaru jego pH.**

W elektrodach stałomembranowych krystaliczne membrany wykonane są z trudno rozpuszczalnej soli (rysunek 4a):

- halogenków srebra ($AgCl$, $AgBr$, AgI) – elektrody są czułe zarówno na anion wchodzący w skład membrany jak i na kation Ag^+ ;
- siarczku srebra (Ag_2S) – elektroda siarczkowa czuła na anion siarczkowy oraz na kation Ag^+ ;
- mieszaniny dwóch siarczków: siarczku srebra oraz siarczku metalu, na który elektroda jest czuła.

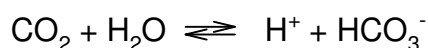
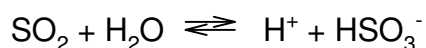
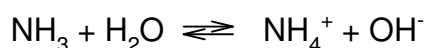
Przykładowe elektrody to: $Ag_2S|CuS$, $Ag_2S|HgS$, $Ag_2S|PbS$, $Ag_2S|CdS$, $Ag_2S|Bi_2S_3$.



Rysunek 4. Schematy elektrod jonoselektywnych: a) ze stałą membraną oraz b) z ciekłym wymiennicem jonowym [wg Cygański A., *Podstawy metod elektroanalizy*, WNT, Warszawa, 1999]

Elektrody jonoselektywne z ciekłymi membranami posiadają „membrany” z ciekłych substancji jonowymiennych. Konstrukcja takiej elektrody jest przedstawiona na rysunek 4b. Roztwór wewnętrzny elektrody ma stałe stężenie jonów, na które jest czuła elektroda. W roztworze wewnętrznym znajduje się elektroda wyprowadzająca. Pomiędzy roztworem wewnętrznym a badanym znajduje się filtr z materiału hydrofobowego, stykający się również krawędzią na obwodzie z hydrofobowym roztworem ciekłego wymiennicza jonowego i nasycony nim dzięki działaniu sił kapilarnych. Substancja jonowymienna nasączająca filtr jest ciekłą membraną. Ustala się równowaga pomiędzy wspólnymi jonami membrany a jonami w obu roztworach wodnych - badanym i wewnętrznym elektrody a potencjał elektrody wewnętrznej jest zgodny z równaniem Nernsta. Elektrody z ciekłymi membranami można stosować do oznaczeń azotanów, jonów wapnia, kationów metali szlachetnych oraz wielu kationów i anionów organicznych.

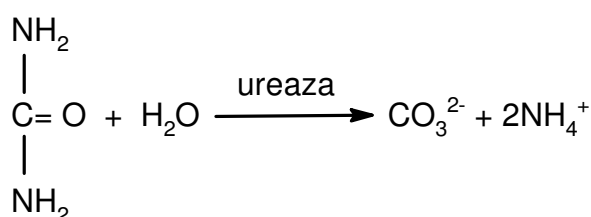
Elektrody jonoselektywne czułe na gazy (nie mylić z elektrodą gazową) składają się z dwóch elektrod, jonoselektywnej elektrody wskaźnikowej – elektrody szklanej oraz elektrody porównawczej, oddzielonych od badanego roztworu membraną hydrofobową, która selektywnie przepuszcza określony gaz. Elektrody te można stosować do oznaczania takich gazów jak: NH_3 , CO_2 , SO_2 , H_2S , NO czy NO_2 . Dyfundujący do wnętrza gaz modyfikuje skład elektrolitu stykającego się bezpośrednio z wskaźnikową elektrodą szklaną:



Elektroda szklana jest czuła na produkty reakcji oznaczanego gazu z wodą, takie jak jony wodorowe czy hydroksylowe, które zmieniają pH. **Tak więc istotną rolę w jonoselektywnych elektrodach czułych na gazy odgrywają dwie membrany: membrana przepuszczalna dla gazu oraz membrana szklana czuła na jony wodorowe, stąd bierze się ich ogólna nazwa - elektrody z podwójnymi membranami.**

Do elektrod z podwójnymi membranami należą również **jonoselektywne elektrody enzymatyczne, które są czułe na proste jony powstające w wyniku reakcji enzymatycznych analizowanych substancji.** Jonoselektywne elektrody enzymatyczne zbudowane są w ten sposób, że na klasyczną szklaną elektrodę jonoselektywną nanosi się warstwę membranową zawierającą enzym reagujący z oznaczanymi związkami.

Przykładem elektrody enzymatycznej jest elektroda służąca do oznaczania mocznika. Mocznik ulega rozkładowi pod wpływem enzymu – ureazy. W wyniku reakcji powstaje kation amonowy, który zmienia potencjał elektrody szklanej.



2.3. Analityczne zastosowanie potencjometrii

Metody potencjometryczne można podzielić na dwie grupy:

- **metody bezpośrednie** polegające na oznaczaniu stężenia jonów poprzez pomiar wartości SEM ogniwa skalibrowanego za pomocą roztworów wzorcowych, w tym:
 - **pomiar pH,**
 - **oznaczanie stężenia jonów** (innych niż jony H^+) w roztworze,
- **miareczkowanie potencjometryczne.**

2.3.1. Pomiar pH

Pehametria jest oddzielnym działem potencjometrii. Jest to prosta metoda analityczna pozwalająca na bardzo dokładny pomiar aktywności (a tym samym stężenia) jonów wodorowych w badanym roztworze. **Pomiar pH polega na pomiarze siły elektromotorycznej ogniwa złożonego z elektrody wskaźnikowej (jest nią najczęściej elektroda szklana) oraz elektrody porównawczej (zwykle nasycona elektroda kalomelowa).** SEM takiego ogniwa zależy od pH badanego roztworu. Jednakże nie można policzyć wartości pH bezpośrednio z prawa Nernsta, ponieważ wartość potencjału standardowego E^0 elektrody szklanej jest zmienna w czasie, poza tym zależy od stosowanej elektrody szklanej oraz od temperatury. **Dlatego, przy zastosowaniu elektrody szklanej, pomiar pH w badanym roztworze może być wykonany jedynie metodą porównawczą, poprzez porównanie z roztworami buforowymi o znanych wartościach pH – porównuje się SEM ogniwa zanurzonego w roztworze badanym z SEM ogniwa zanurzonego w wzorcowym roztworze buforowym.**

Wzory na potencjał elektrody w roztworze badanym (x) oraz wzorcowym roztworze buforowym (wz) są podane poniżej:

$$E_x = E^0 - k \times pH_x \quad (6)$$

$$E_{wz} = E^0 - k \times pH_{wz} \quad (7)$$

gdzie:

E_x – potencjał elektrody szklanej względem elektrody kalomelowej w roztworze badanym,
 E_{wz} – potencjał elektrody szklanej względem elektrody kalomelowej w roztworze wzorcowym,
 E^0 – potencjał elektrody w roztworze o aktywności jonów H^+ równej 1 mol/L,
 k – współczynnik proporcjonalności zależny od temperatury równy 0,1984 T, współczynnik k określa, o ile miliwoltów zmieni się potencjał elektrody, jeżeli pH zmieni się o 1;
 pH_x, pH_{wz} – wartości pH odpowiednio roztworu badanego i roztworu wzorcowego.

Z powyższych wzorów można wyprowadzić podstawowe równanie pehametrii:

$$pH_x = pH_{wz} - \frac{E_x - E_{wz}}{k} \quad (8)$$

W trakcie pomiaru pH mierzy się zmianę potencjału elektrody ($E_x - E_{wz}$) spowodowaną przeniesieniem elektrody szklanej wraz z elektrodą kalomelową z roztworu wzorcowego do roztworu badanego. Zmiana potencjału jest proporcjonalna do różnicy w wartościach pH obu roztworów. Temperatura roztworu badanego oraz wzorcowego musi być taka sama.

W praktyce, przed pomiarem pH badanego roztworu, przeprowadza się kalibrowanie pehametru, w czasie którego zanurza się zestaw elektrod wskaźnikowej i porównawczej do wzorcowego roztworu buforowego i ustawia się dokładnie wskazówkę pehametru na wartość pH wzorca.

2.3.2. Oznaczanie stężenia jonów w roztworze metodą potencjometrii bezpośredniej

Do oznaczania stężenia jonów służą jonoselektywne elektrody wskaźnikowe. Podobnie jak w pehametrii stosuje się ogniwo zbudowane z jonoselektywnej elektrody wskaźnikowej czulej na oznaczane jony oraz z elektrody odniesienia. SEM takiego ogniwa (E) wynosi w przypadku oznaczania kationów:

$$E = E^* + \frac{S}{n} \log a_{M^{n+}} \quad (9)$$

lub w przypadku oznaczania anionów:

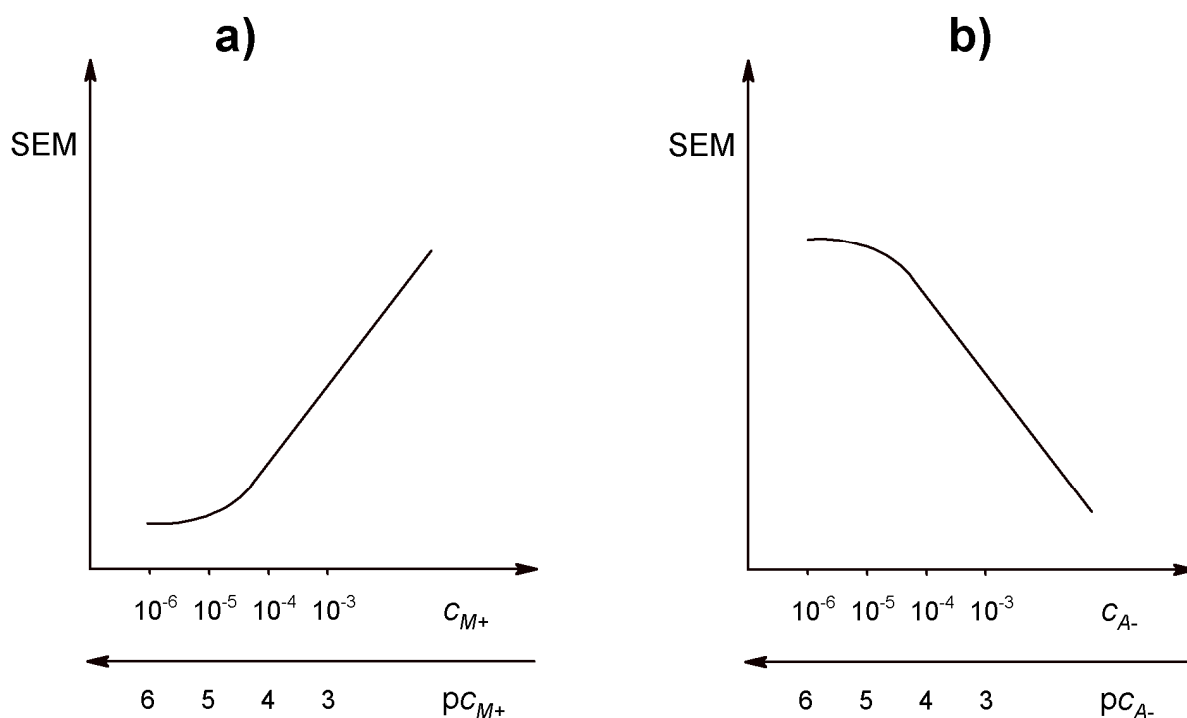
$$E = E^* - \frac{S}{n} \log a_{A^{n-}} \quad (10)$$

gdzie:

E^* – stała dla danego układu obejmująca potencjał standardowy elektrody wskaźnikowej, potencjał elektrody odniesienia, potencjały dyfuzyjne w układzie pomiarowym;
 S/n – nachylenie charakterystyki elektrody.

Charakterystyka elektrody jest to wykres zależności potencjału elektrody od aktywności, $E = f(a_M)$ lub od stężenia, $E = f(c_M)$ oznaczanego jonu. Wyznacza się je eksperymentalnie, wykreślając zależność

między siłą elektromotoryczną ogniwa zbudowanego z elektrody jonoselektywnej i elektrody odniesienia a aktywnością lub stężeniem oznaczanego jonu. W przypadku analizy ilościowej korzysta się z zależności SEM od stężenia oznaczanego jonu. **Wykresy charakterystyk elektrod mogą być wykreślone w zależności od stężenia oznaczanego jonu $E = f(c_M)$ lub od logarytmu stężenia oznaczanego jonu $E = f(\log c_M)$ lub też od ujemnego logarytmu stężenia oznaczanego jonu $E = f(pC_M)$.** Wykresy przedstawiające te zależności są też nazywane krzywymi odpowiedzi elektrody i są jednocześnie krzywymi kalibracyjnymi stosowanymi w oznaczaniu stężenia jonów w roztworze metodą potencjometrii bezpośredniej. Przykładowe wykresy charakterystyk elektrod dla kationów oraz anionów przedstawione są na rysunku 5. Z krzywych można określić nachylenie charakterystyki elektrody S/n a także zakres przebiegu prostoliniowego, który wykorzystuje się do pomiarów potencjometrycznych.



Rysunek 5. Krzywa kalibracyjna: a) dla kationów oraz b) dla anionów [wg Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1996]

Przy zastosowaniu elektrody jonoselektywnej oznaczanie jonów w badanym roztworze może być wykonane jedynie metodą porównawczą:

- metodą krzywej wzorcowej,
- metodą dodatku wzorca.

Metoda krzywej wzorcowej polega na wykreśleniu zależności SEM ogniwa od stężenia oznaczanego jonu, czyli na wyznaczeniu charakterystyki elektrody. Po wyznaczeniu krzywej wzorcowej (krzywej kalibracyjnej) wykonuje się pomiar SEM ogniwa w badanym roztworze i odczytuje wynik z wykresu. Zakłada się, że współczynnik aktywności oznaczanych jonów zarówno w roztworach wzorcowych jak i w roztworze badanym jest taki sam. Aby to osiągnąć siła jonowa tych roztworów musi być identyczna. Bardzo często jest to trudne do wykonania, w takim przypadku należy zastosować metodę dodatku wzorca, która eliminuje wpływ matrycy. Metoda dodatku wzorca polega na

wykonaniu pomiaru SEM ogniwa dla roztworu badanego oraz dla roztworu badanego, do którego dodano określoną ilość oznaczanego związku.

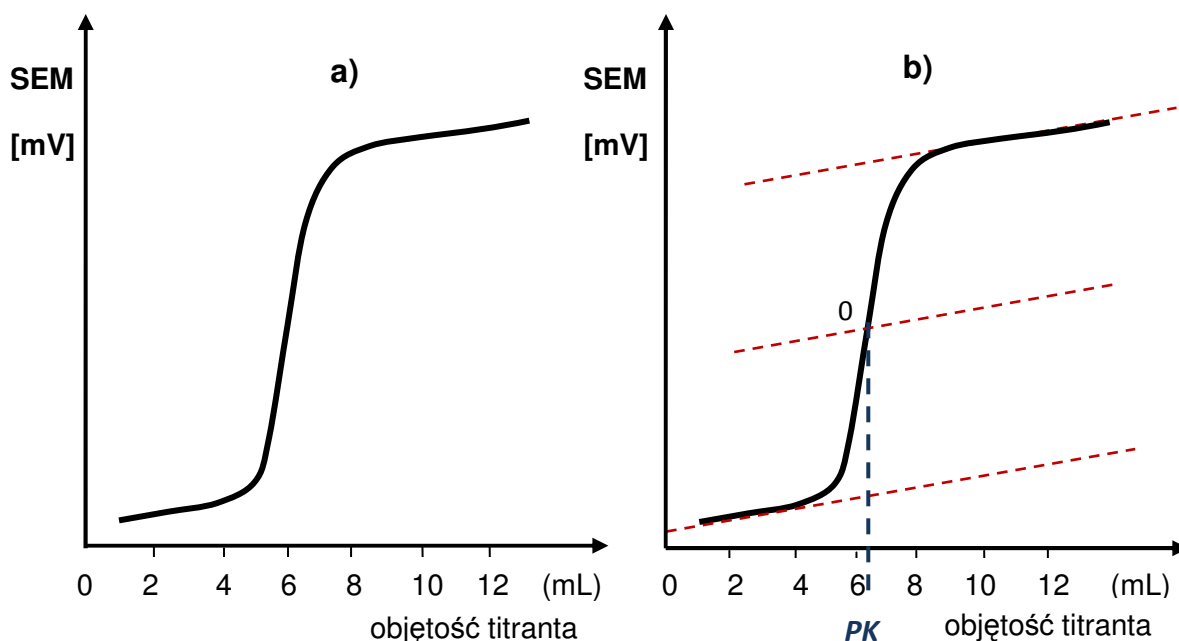
2.3.3. Miareczkowanie potencjometryczne metodą klasyczną

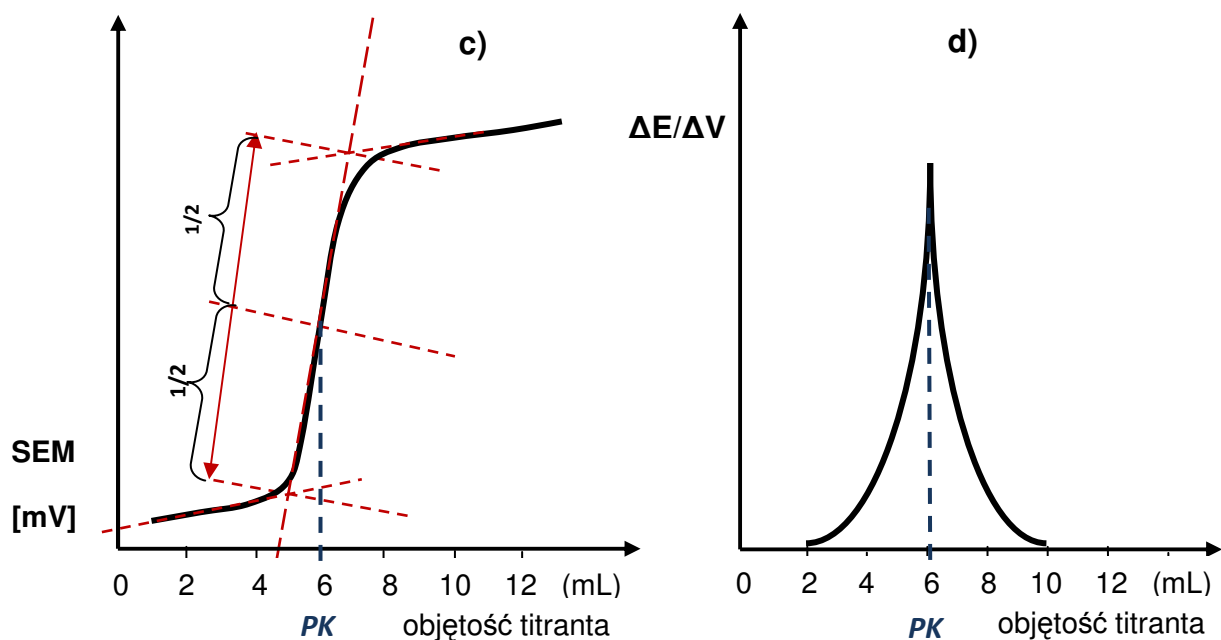
Pomiary potencjometryczne mogą służyć do kontrolowania miareczkowania na przykład w przypadku roztworów mętnych lub zabarwionych, w których wizualnie trudno określić punkt końcowy miareczkowania. **Miareczkowanie potencjometryczne polega na mierzeniu SEM ogniwa pomiarowego zbudowanego z elektrody jonoselektywnej (wskaźnikowej) i elektrody odniesienia zanurzonych w badanym roztworze po dodaniu każdej porcji odczynnika miareczkującego.** Dobiera się odpowiednio elektrodę wskaźnikową czułą na zmiany stężenia składnika oznaczanego lub odczynnika miareczkującego. W pobliżu punktu końcowego miareczkowania (PK) następuje silna zmiana SEM. Krzywa miareczkowania potencjometrycznego, czyli wykres zależności SEM od objętości dodanego odczynnika miareczkującego $SEM = f(V)$ ma charakterystyczny przebieg przypominający literę „S” (rysunek 6a).

Punkt końcowy miareczkowania można wyznaczyć z krzywej miareczkowania kilkoma metodami:

- metodą graficzną,
- metodą pierwszej pochodnej,
- metodą drugiej pochodnej i innymi.

Najprostsza jest metoda graficzna przedstawiona na rysunek 6b. Kreśli się dwie równoległe linie, styczne do odcinków poziomych wykresu krzywej miareczkowania. W połowie odległości pomiędzy stycznymi wyznacza się trzecią linię równoległą do stycznych, która przecina krzywą miareczkowania (na rysunku 6b jest to punkt *O*). Z punktu przecięcia *O* prowadzi się linię prostopadłą do osi odciętych wykresu i odczytuje objętość dodanego titranta, potrzebnego do osiągnięcia punktu końcowego miareczkowania. Jeśli przebieg krzywej miareczkowania uniemożliwia przeprowadzenie trzech stycznych równoległych, PK wyznacza się metodą przedstawioną na rysunek 6c. Wykreśla się styczne do początkowej i końcowej („poziomych”) oraz środkowej („pionowej”) części krzywej miareczkowania potencjometrycznego. Środek odcinka „pionowej” stycznej, wyznaczonego przez styczne „poziome”, rzutowany na oś odciętych wyznacza punkt końcowy miareczkowania.





Rysunek 6. Krzywa miareczkowania potencjometrycznego (a) oraz metody graficzne wyznaczania punktu końcowego miareczkowania: (b) - równoległe linie styczne oraz linia równoległa do nich są zaznaczone na czerwono, linia prostopadła do osi odciętych wykresu zaznaczona jest na zielono, (c) – wyznaczanie stycznych do „poziomych i pionowej” części krzywej miareczkowania potencjometrycznego, PK wyznacza miejsce przecięcia krzywej miareczkowania w połowie długości odcinka stycznej pionowej, (d) – wyznaczanie PK metodą I-szej pochodnej [wg Cygański A., *Podstawy metod elektroanalizy*, WNT, Warszawa, 1999; Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1996]

Do wykreślenia krzywej przedstawionej na rysunku 6d należy obliczyć przyrosty SEM przypadające na jednostkę objętości dodanego titranta $\Delta E/\Delta V$ w trakcie miareczkowania a następnie wykreślić ich zależność od ilości titranta $\Delta E/\Delta V = f(V)$. Punkt zmiany kierunku wykreślonej krzywej, rzutowany na oś odciętych wyznaczy punkt końcowy miareczkowania.

3. Konduktometria

3.1. Wprowadzenie

Konduktometria jest to metoda elektrochemiczna wykorzystująca pomiar przewodnictwa elektrycznego roztworu. W konduktometrii klasycznej elektrolit znajduje się pomiędzy dwoma elektrodami platynowymi, do których podłączone jest napięcie zmienne. Roztwory elektrolitów przewodzą prąd elektryczny, ponieważ jony obecne w roztworze poruszają się pod wpływem napięcia przyłożonego do dwóch elektrod zanurzonych w roztworze (kationy poruszają się w stronę elektrody ujemnej, katody zaś aniony w stronę elektrody dodatniej, anody).

Aby zmierzyć przewodnictwo badanego roztworu, przepływ prądu musi zależeć tylko od przyłożonego napięcia i oporu roztworu znajdującego się pomiędzy elektrodami zgodnie z pierwszym prawem Ohma (na elektrodach **nie mogą** zachodzić reakcje elektrodowe). Dlatego w konduktometrii stosuje się dwie jednakowe i niereagujące ze składnikami elektrolitu (platynowe) elektrody oraz prąd zmienny (o częstotliwości w zakresie 1–10 kHz) dla eliminacji procesów elektrodowych na elektrodach.

Pierwsze prawo Ohma mówi, że natężenie prądu płynącego przez przewodnik jest proporcjonalne do różnicy potencjałów (napięcia elektrycznego) pomiędzy końcami przewodnika a odwrotnie proporcjonalne do oporu stawianego przez przewodnik:

$$I = \frac{U}{R} \quad (11)$$

gdzie:

I – natężenie prądu elektrycznego [A],
 U – napięcie [V],
 R – opór przewodnika [Ω].

Prawo to nie jest spełnione, gdy zmieniają się parametry przewodnika, czyli na przykład temperatura.

Drugie prawo Ohma mówi, że opór odcinka przewodnika o stałym przekroju poprzecznym jest proporcjonalny do długości tego odcinka i odwrotnie proporcjonalny do pola powierzchni przekroju:

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (12)$$

gdzie:

R – opór przewodnika [Ω],
 l – długość przewodnika [cm],
 A – pole powierzchni przekroju przewodnika [cm²],
 ρ – opór właściwy przewodnika [$\Omega \cdot \text{cm}$].

3.2. Przewodnictwo elektrolitów

Przewodnictwo roztworów elektrolitów, które są przedmiotem zainteresowania analizy, nazywa się przewodnictwem elektrolitycznym lub konduktancją elektrolityczną.

Przewodnictwo elektrolityczne (konduktancja) G jest odwrotnością oporu elektrycznego roztworu:

$$G = \frac{1}{R} \quad (13)$$

gdzie:

G – przewodnictwo [S, siemens], $1 \text{ S} = 1 \Omega^{-1}$,
 R – opór przewodnika (elektrolitu) [Ω].

Przewodnictwo właściwe χ jest to przewodnictwo słupa elektrolitu o długości 1 cm i przekroju 1 cm².

Przewodnictwo właściwe jest odwrotnością oporu właściwego:

$$\chi = \frac{1}{\rho} = \frac{1}{R s} \quad (14)$$

gdzie:

χ – przewodnictwo właściwe [$S \cdot cm^{-1}$], [$\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}$],

ρ – opór właściwy [$\Omega \cdot cm$],

R – opór [Ω],

l – długość słupa elektrolitu odpowiada odległości pomiędzy elektrodami [cm],

s – pole powierzchni przekroju słupa elektrolitu odpowiada polu powierzchni elektrod, pomiędzy którymi znajduje się elektrolit [cm^2].

Dokładne wyznaczenie wielkości l oraz s jest praktycznie niemożliwe, dlatego doświadczalnie wyznacza się stosunek l/s posługując się roztworami o znanym przewodnictwie właściwym. Pomiary przewodnictwa są pomiarami porównawczymi i wykonuje się je w tzw. naczynkach konduktometrycznych (rysunek 7). **Stała naczynka elektrolitycznego** (inaczej pojemność oporowa naczynka, stała naczynka konduktometrycznego) stosowanego w konduktometrii określona jest wzorem:

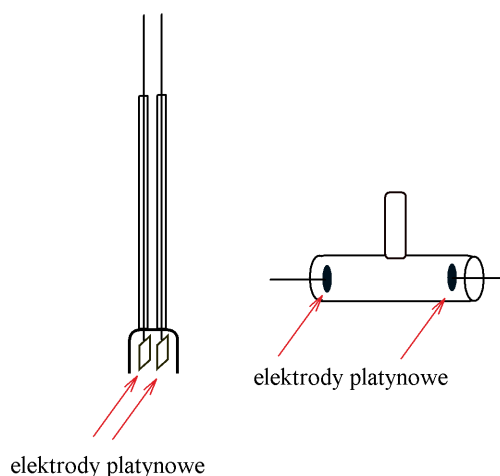
$$k = \frac{l}{s} \quad (15)$$

gdzie:

k – stała naczynka elektrolitycznego [cm^{-1}],

l – odległość pomiędzy elektrodami [cm],

s – pole powierzchni elektrod, pomiędzy którymi znajduje się elektrolit [cm^2].



Rysunek 7. Naczynka konduktometryczne

Przewodnictwo właściwe jest opisane następującym wzorem:

$$\chi = \frac{1}{R} k = \frac{k}{R} \quad (16)$$

Przewodnictwo elektryczne roztworu elektrolitu umieszczonego pomiędzy dwoma elektrodami obliczamy z następujących wzorów:

$$G = \frac{1}{R} = \chi \frac{s}{l} = \frac{\chi}{k} \quad (17)$$

gdzie:

G – przewodnictwo roztworu [S],

R – opór roztworu [Ω],

χ – przewodnictwo właściwe roztworu [$S \cdot cm^{-1}$], [$\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}$],

l – odległość pomiędzy elektrodami [cm],

s – pole powierzchni elektrod, pomiędzy którymi znajduje się elektrolit [cm^2],

k – stała naczyńka elektrolitycznego [cm^{-1}].

Przewodnictwo właściwe elektrolitu jest liniową funkcją stężenia w roztworach rozcieńczonych.

Przewodnictwo i przewodnictwo właściwe elektrolitów zależy od rodzaju elektrolitu, stężenia i temperatury. Przewodnictwo właściwe elektrolitów jest mniejsze od przewodnictwa właściwego metali.

Przewodnictwo molowe elektrolitu odnosi się do określonego związku chemicznego i jest opisane wzorem:

$$\Lambda = \frac{\chi}{c} \cdot 1000 \quad (18)$$

gdzie:

Λ – przewodnictwo molowe (konduktywność molowa) roztworu substancji [$S \cdot cm^2/mol$],

χ – przewodnictwo właściwe roztworu substancji [$S \cdot cm^{-1}$], [$\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}$],

c – stężenie molowe roztworu substancji [mol/L].

Przewodnictwo molowe odpowiada przewodnictwu elektrycznemu, które wykazuje warstwa elektrolitu znajdująca się pomiędzy dwoma elektrodami oddalonymi o 1 cm i o objętości, w której znajduje się 1 mol substancji.

Można wyróżnić także przewodnictwo jonowe λ kationu lub anionu. Przewodnictwo molowe elektrolitu zależy od przewodnictwa kationu, przewodnictwa anionu i stopnia dysocjacji elektrolitu:

$$\Lambda_{AB} = \alpha(\lambda_{A^+} + \lambda_{B^-}) \quad (19)$$

gdzie:

Λ_{AB} – przewodnictwo molowe elektrolitu AB ,

α – stopień dysocjacji elektrolitu AB ,

λ_{A^+} – przewodnictwo molowe kationu A^+ ,

λ_{B^-} – przewodnictwo molowe anionu B^- .

Graniczne przewodnictwo molowe, czyli graniczna wartość, do jakiej dąży przewodnictwo molowe elektrolitu, gdy stężenie elektrolitu dąży do zera, opisane jest wzorem (prawo Kohlrauscha):

$$\Lambda_{AB}^{\circ} = \lambda_{A+}^{\circ} + \lambda_{B-}^{\circ} \quad (20)$$

gdzie:

Λ_{AB}° – przewodnictwo molowe graniczne elektrolitu AB,

λ_{A+}° – przewodnictwo molowe graniczne kationu,

λ_{B-}° – przewodnictwo molowe graniczne anionu.

Przewodnictwo elektrolitu zależy od: ilości jonów w roztworze, ich ładunku oraz prędkości poruszania się jonów w polu elektrycznym, którą charakteryzuje się za pomocą ruchliwości jonów.

Prędkość kationu lub anionu opisana jest wzorami:

$$v_K = u_K \cdot \frac{E}{l} \quad (21)$$

$$v_A = u_A \cdot \frac{E}{l} \quad (22)$$

gdzie:

v_K – prędkość kationu,

v_A – prędkość anionu,

u_K – ruchliwość kationu [$\text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$],

u_A – ruchliwość anionu [$\text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$],

E – różnica potencjałów na elektrodach [V],

l – odległość pomiędzy elektrodami [cm].

Ruchliwości większości jonów w roztworach wodnych o nieskończenie wielkim rozcieńczeniu, w temp. 25°C, wynoszą około $5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Wyjątkowo ruchliwe są jony OH^- ($20 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) oraz H^+ ($36,2 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Różnice w ruchliwości jonów umożliwiają konduktometryczne wyznaczanie punktu końcowego miareczkowania, gdyż w miarę ubywania lub przybywania jonów ruchliwych lub zastępowania ich jonami o innej ruchliwości w trakcie miareczkowania, następuje zmiana przewodnictwa roztworu.

Zależność pomiędzy granicznym przewodnictwem molowym a ruchliwością jonów w roztworach wodnych o nieskończenie wielkim rozcieńczeniu opisana jest wzorem:

$$\Lambda^{\circ} = F(u_K^{\circ} + u_A^{\circ}) \quad (23)$$

gdzie:

Λ° – przewodnictwo molowe graniczne,

F – stała Faradaya równa 96 500 C,

u_K° – ruchliwość kationu w roztworze nieskończenie rozcieńczonym,

u_A° – ruchliwość anionu w roztworze nieskończenie rozcieńczonym.

3.3. Zastosowanie konduktometrii klasycznej

Analityczne zastosowanie konduktometrii klasycznej można podzielić na:

- konduktometrię bezpośrednią,
- miareczkowanie konduktometryczne.

W konduktometrii klasycznej do wykonania pomiarów potrzebne są:

- naczynko konduktometryczne (rysunek 7),
- konduktometr.

Konduktometry są to przyrządy, których działanie oparte jest o zasadę mostka Wheatstone'a (pomiar oporu elektrolitu) a wyposażone są w skalę w jednostkach przewodnictwa ($S = \Omega^{-1}$). Aby dokonać pomiaru, zanurza się naczynko konduktometryczne w badanym roztworze. **Należy zwrócić uwagę na to, aby roztwór badany całkowicie zakrywał elektrody.**

3.3.1. Konduktometria bezpośrednia

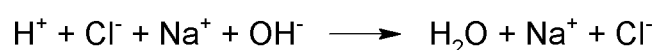
Konduktometria bezpośrednia polega na pomiarze przewodności właściwej rozcieńczonych elektrolitów i następnie wyznaczeniu stężenia elektrolitów w roztworach zgodnie z liniową zależnością pomiędzy przewodnością a stężeniem. Jest to nieselektywna metoda analizy. Wszystkie jony obecne w badanym roztworze wpływają na jego przewodnictwo, tak więc nie można na podstawie jego wartości oznaczać ilości poszczególnych analitów. Konduktometria jest stosowana m.in. w określaniu charakterystyki wód naturalnych bądź kontroli jakości wody po procesach oczyszczania. Jednak podstawowym zastosowaniem konduktometrii bezpośredniej są detektory konduktometryczne używane w cieczowej chromatografii jonowej.

3.3.2. Miareczkowanie konduktometryczne

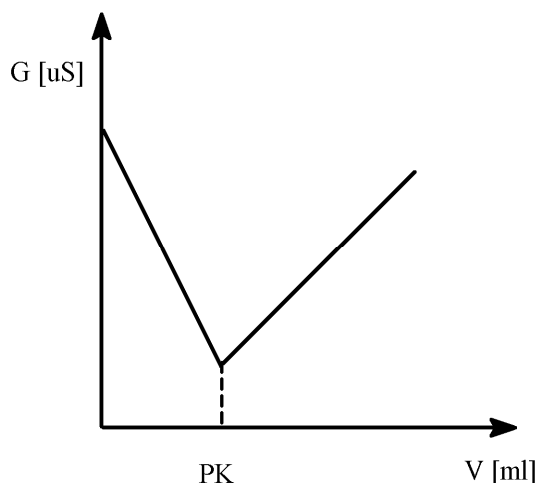
Miareczkowanie konduktometryczne jest rodzajem miareczkowania, w którym punkt końcowy miareczkowania wyznacza się mierząc zmiany przewodnictwa roztworu miareczkowanego. Znajomość stałej naczynka konduktometrycznego nie jest potrzebna, ponieważ mierzone są zmiany przewodnictwa a nie samo przewodnictwo.

Miareczkowanie mocnego kwasu mocną zasadą (lub odwrotnie)

W trakcie miareczkowania obserwuje się początkowo duży spadek przewodnictwa roztworu ponieważ ruchliwe jony wodorowe zostają związane w niezdysoncjowane cząsteczki wody (rysunek 8). Na miejsce ruchliwych jonów wodorowych wprowadzane są mniej ruchliwe jony metalu, jak w przykładzie miareczkowanie kwasu solnego roztworem wodorotlenku sodu:



Następnie, po przekroczeniu punktu równoważnikowego przewodnictwo zaczyna szybko rosnąć ze względu na wprowadzanie kolejnych ilości jonów do roztworu: Na^+ i ruchliwych jonów OH^- .

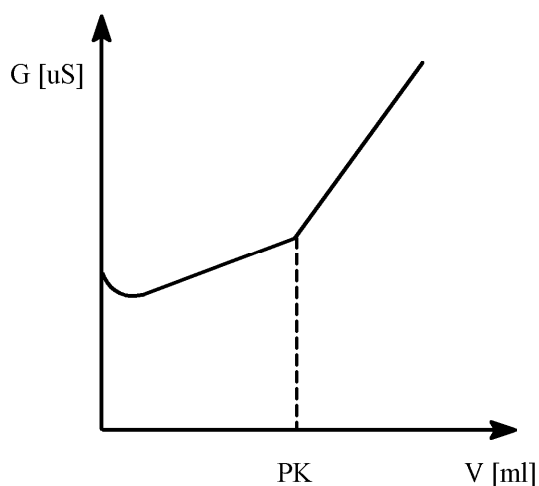
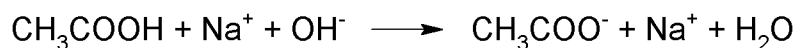


Rysunek 8. Krzywa miareczkowania konduktometrycznego mocnego kwasu mocną zasadą

Miareczkowanie słabego kwasu mocną zasadą lub słabej zasady mocnym kwasem

W trakcie miareczkowania obserwuje się początkowo niewielki spadek przewodnictwa roztworu z powodu cofania się dysocjacji słabego kwasu lub słabej zasady a następnie wzrost przewodnictwa związany z zastępowaniem słabo dysocjowanego kwasu lub zasady poprzez dobrze dysocjowaną sól słabego kwasu i mocnej zasady lub słabej zasady i mocnego kwasu. Po przekroczeniu punktu równoważnikowego następuje gwałtowny wzrost przewodnictwa wskutek wprowadzania ruchliwych jonów OH^- do roztworu (jak w podanym poniżej przykładzie) lub bardzo ruchliwych jonów H^+ .

Przykład miareczkowanie kwasu octowego roztworem wodorotlenku sodu:

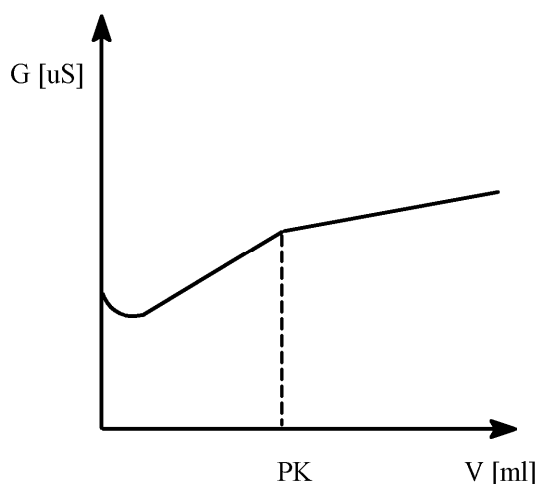
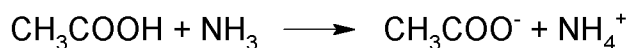


Rysunek 9. Krzywa miareczkowania konduktometrycznego słabego kwasu mocną zasadą

Miareczkowanie słabego kwasu słabą zasadą lub słabej zasady słabym kwasem.

Początkowo przewodnictwo maleje na skutek cofania się dysocjacji słabego kwasu i słabej zasady a następnie rośnie wskutek powstawania dobrze dysocjowanej soli. Po przekroczeniu punktu równoważnikowego, wzrost przewodnictwa wynikający z nadmiaru słabej zasady lub kwasu jest niewielki.

Przykład miareczkowanie kwasu octowego roztworem amoniaku:



Rysunek 10. Krzywa miareczkowania konduktometrycznego słabego kwasu słabą zasadą

Po przekroczeniu punktu równoważnikowego następuje słabszy wzrost przewodnictwa wskutek wprowadzania dalszych ilości słabo dysocjowanego amoniaku do roztworu.

4. Literatura

1. Bielański, A. *Chemia ogólna i nieorganiczna*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1982.
2. Cygański, A. *Podstawy metod elektroanalizy*; Wydawnictwo Naukowo-Techniczne: Warszawa, 1999.
3. Ewing, G.W. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1980.
4. Patnaik, P. *Dean's Analytical Chemistry Handbook*; McGraw-Hill: New York, 2004; *e-książki*.
5. Szczepaniak, W. *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 1996.

VIII. Metody miareczkowe

1. Podział metod miareczkowych

Analiza miareczkowa (**objętościowa**) jest klasyczną metodą analizy ilościowej, w której wykorzystuje się określone reakcje chemiczne. W miareczkowaniu wykorzystuje się dwa podstawowe roztwory:

- roztwór analitu o nieznanym stężeniu i znanej objętości – **roztwór miareczkowany**,
- roztwór odczynnika reagującego ilościowo z analitem, zgodnie ze stechiometrią dokładnie znanej reakcji – **roztwór mianowany odczynnika miareczkującego, titrant**.

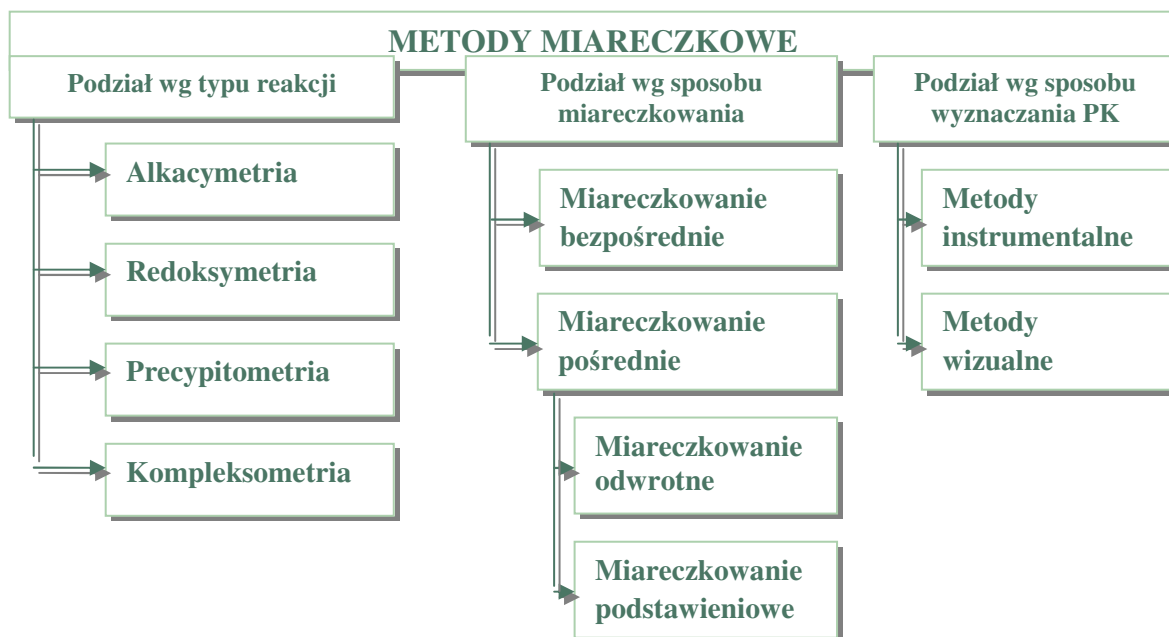
Po dodaniu odpowiedniej objętości roztworu titranta do roztworu miareczkowanego następuje całkowite przereagowanie analitu – ten punkt miareczkowania nazywa się **punktem równoważności miareczkowania (PR)**.

Jest to punkt teoretyczny, gdyż wyznaczanie jego wartości (objętości titranta) odbywa się **metodami wizualnymi i instrumentalnymi, zawsze obciążonymi pewnym błędem**. Metody wizualne wymagają najczęściej stosowania odpowiednich **wskaźników (indykatorów)**, np. substancji zabarwiających się lub zmieniających barwę roztworu miareczkowanego w warunkach chemicznych PR.

Punkt miareczkowania, w którym rejestruje się wizualnie czy instrumentalnie koniec miareczkowania nazywa się punktem końcowym miareczkowania (PK).

Różnica w objętości titranta zużytego na określenie punktu końcowego miareczkowania (PK) a teoretyczną, potrzebną na osiągnięcie punktu równoważności miareczkowania (PR) **nazywa się błędem miareczkowania**. Podział metod objętościowych wg różnych kryteriów przedstawiono na rysunku 1.

Alkacymetrią nazywa się miareczkowanie, w którym podstawą oznaczenia jest reakcja kwas – zasada. W zależności od właściwości analitu, titrantem jest kwas lub zasada. **W redoksymetrii podstawą oznaczenia są reakcje utleniania i redukcji**. Miareczkowanie redoksymetryczne jest bardzo obszernym działem analizy objętościowej, dzielonym wg stosowanego titranta. **Precypitometria jest miareczkowaniem wytrąceniowym**, w którym podstawą oznaczenia jest reakcja tworzenia trudnorozpuszczalnych związków o ściśle określonym składzie. **Kompleksometryczne miareczkowanie oparte jest na tworzeniu rozpuszczalnych i trwałych związków kompleksowych**. W **miareczkowaniu bezpośrednim** analit reaguje szybko i stechiometrycznie tylko z titrantem, np. w acydymetrii. W **miareczkowaniu pośrednim** analit reaguje z inną substancją, która jest następnie miareczkowana titrantem. **Miareczkowanie odwrotne** jest miareczkowaniem pośrednim. Do roztworu miareczkowanego dodaje się w nadmiarze, ale ściśle określoną objętość roztworu mianowanego (I) i czeka aż zajdzie reakcja. Następnie miareczkuje się nadmiar odczynnika mianowanego (I) innym, specjalnie dobranym titrantem (II). **Miareczkowanie podstawieniowe** jest też miareczkowaniem pośrednim. Analit reaguje z odpowiednim odczynnikiem, w wyniku reakcji powstaje nowy składnik roztworu miareczkowanego, zwany podstawnikiem, który następnie jest miareczkowany odpowiednim titrantem.



Rysunek 1. Podział metod miareczkowych

W **metodach instrumentalnych** wyznaczanie punktu końcowego miareczkowania odbywa się przez pomiar określonych wielkości fizycznych roztworu miareczkowanego, które zmieniają się w trakcie dodawania titranta. Zależność mierzonych wartości od objętości dodawanego titranta nazywa się krzywą miareczkowania, z której wyznacza się PK. Mierzonymi wielkościami fizycznymi mogą być:

- zmiany potencjału elektrycznego ogniwa (SEM), złożonego z elektrody wskaźnikowej i odniesienia (**miareczkowanie potencjometryczne**),
- zmiany przewodnictwa elektrycznego roztworu miareczkowanego (**miareczkowanie konduktometryczne**),
- zmiany natężenia prądu dyfuzyjnego (miareczkowanie amperometryczne),
- zmiany absorpcji roztworu miareczkowanego (**miareczkowanie spektrofotometryczne**).

W **metodach wizualnych** detektorem jest oko ludzkie, które rejestruje zmianę barwy, zanik barwy lub pojawienie się barwy roztworu miareczkowanego w trakcie dodawania titranta.

2. Podstawowe zasady analizy miareczkowej

2.1. Roztwory mianowane

Roztwory mianowane to roztwory o dokładnie znanym stężeniu wyrażonym w mol L⁻¹ (stężenie molowe) lub w g mL⁻¹ (miano roztworu). Roztwory do miareczkowania (titranty) powinny mieć świeżo wyznaczone miano z dokładnością do 0,1%. Wyznaczanie miana wykonuje się przeważnie analizą miareczkową, stosując substancje wzorcowe. Aby dokładnie wyznaczyć miano titranta, substancje wzorcowe muszą spełniać kilka warunków:

- powinny mieć **znany i ściśle określony wzór chemiczny** (np. zawartość wody krystalizacyjnej, itp.),

- muszą **reagować z roztworem mianowanym stechiometrycznie**, ściśle wg równania reakcji,
- powinny być **trwałe**, aby podczas ważenia nie ulegały wietrzeniu, utlenianiu czy innym przemianom, powinny być łatwe do przechowywania w stanie czystym, nie powinny być higroskopijne,
- powinny być **bardzo czyste**, maksymalna zawartość innych substancji nie może przekraczać $0,01 \div 0,02$ %,
- powinny być **łatwo rozpuszczalne w wodzie**,
- powinny mieć możliwie **dużą masę cząsteczkową** (im większa masa naważki tym mniejszy błąd ważenia).

Roztwór, którego miano się wyznacza, powinien być zawsze w biurecie.

Zużycie titranta powinno wynosić $30 \div 40$ mL. Miano należy podać w postaci średniej, z co najmniej trzech wyników pomiarów, nieróżniących się od siebie o więcej niż $0,1 \div 0,2$ %.

Do każdego pomiaru stosować inną masę naważki substancji wzorcowej.

Jeśli odczynnik będący titrantem jest w stanie bardzo czystym, wystarczy dokładna naważka i nie ma konieczności wyznaczania jego miana metodą miareczkową. Takimi odczynnikami są m.in.: szczawian sodu, azotan(V) srebra(I), dichromian(VI) potasu, chlorki metali alkalicznych. Roztwór o dokładnym stężeniu sporządza się również z fiksantami, tzn. dostępnych handlowo, w zatopionych ampułkach, dokładnie wyznaczonych ilości związku chemicznego (w postaci stałej lub w roztworze).

2.2. Wykonanie miareczkowania

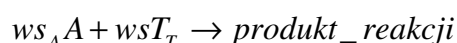
W trakcie wykonywania miareczkowania należy przestrzegać pewnych zasad:

- zawsze stosować **szczerne i czyste biurety** oraz pozostałe szkło (**ze szkła czystego woda spływa cienkim filmem a nie kroplami!**),
- **po napełnieniu biurety wyjąć lejek** (ściekające krople z lejka zmieniają objętość płynu w biurecie),
- **usunąć powietrze z końcówki biurety**, poprzez wypchnięcie ostrym strumieniem titranta,
- **każde miareczkowanie zaczynać od poziomu zerowego biurety**,
- **roztwór miareczkowany mieszać** energicznie ręcznie lub na mieszadle magnetycznym,
- **roztwór mianowany spuszcza się z biurety dość szybko tylko na początku miareczkowania, potem wolniej, a blisko PK – po kropli (obserwuje się kolbę z roztworem miareczkowanym a nie biuretę)**; jeśli nie ma pewności, czy PK został osiągnięty, należy zapisać odczytaną wartość z biurety, a następnie dodać kolejną kroplę, dla uzyskania pewności,
- **szybkość spuszczenia roztworu z biurety musi być taka, by ciecz mogła płynąć swobodnie po ściankach biurety**,
- **poziom cieczy po skończonym miareczkowaniu odczytywać zawsze po upływie takiego samego czasu** (by titrant zdążył spłynąć ze ścianek biurety),
- należy tak dobrać stężenia roztworu miareczkowanego i titranta, aby **jedna objętość biurety starczyła na całe miareczkowanie**, objętość zużytego titranta nie powinna być mniejsza niż 20 mL,
- miareczkowanie należy wykonywać w **miejscu dobrze oświetlonym**,
- wyniki z kolejnych powtórzeń **nie powinny się różnić o więcej niż $0,05 \div 0,15$ mL**,

- pozostały w biurecie titrant można wykorzystać do ponownego miareczkowania, tylko wtedy, gdy jest wykonywane **od razu**,
- pozostałego w biurecie **titranta nie zlewa się z powrotem do pojemnika** z roztworem mianowanym,
- po skończonym miareczkowaniu biuretę należy umyć i przechowywać napełnioną **wodą destylowaną**.

2.3. Wykonanie obliczeń

Masę oznaczanej substancji (A) w gramach, w miareczkowanej objętości próbki, oblicza się zgodnie ze stechiometrią równania reakcji, korzystając z wzoru na masę analitu:



gdzie:

A – analit, substancja oznaczana,

T – titrant, substancja reagująca z analitem,

ws_A , ws_T – współczynniki stechiometrii reakcji analitu i titranta,

$$m_{A(g)} = \frac{c_T V_T}{1000} \frac{ws_A}{ws_T} M_A \quad (1)$$

gdzie:

$m_{A(g)}$ – masa analitu zawarta w miareczkowanej objętości próbki,

M_A – masa molowa analitu,

c_T – stężenie roztworu titranta w mol L⁻¹,

V_T – objętość roztworu titranta zużyta w czasie miareczkowania.

Jeśli do miareczkowania zużywa się tylko część próbki, w obliczeniach należy uwzględnić, jaką część próbki pobrano do analizy. Zwykle próbka znajduje się w naczyniu o dużej pojemności, np. w kolbie miarowej o pojemności 250 mL a do analizy pobiera się objętość 10 razy mniejszą, czyli 25 mL. Zatem, by uzyskać zawartość oznaczanej substancji w 250 mL próbki, otrzymany wynik należy pomnożyć przez 10, pod warunkiem, że kolba miarowa jest **współmierna** z pipetą, czyli 10 objętości pipety daje dokładnie 250 mL. Równanie na obliczenie masy analitu przyjmuje wówczas następującą postać:

$$m_{A(g)} = \frac{c_T V_T}{1000} \frac{ws_A}{ws_T} M_A W \quad (2)$$

gdzie:

W – współmierność kolbki z pipetą.

W praktyce współmierność kolby z pipetą, czyli dokładny stosunek objętości kolby do objętości pipety, wyznacza się metodą wagową.

2.3.1. Wyznaczanie współmierności kolby z pipetą

Kolejność działań przy wyznaczaniu współmierności:

- zważyć suchą kolbę miarową na wadze technicznej,
- napełnić kolbę miarową wodą destylowaną do kreski i zważyć na wadze technicznej,

- zważyć suche naczynko wagowe z pokrywką, o pojemności odpowiadającej pojemności pipety, na wadze analitycznej,
- odmierzyć do naczynka pipetą wodę destylowaną, zamknąć naczynko i zważyć na wadze analitycznej,
- obliczyć współmierność kolby z pipetą, jako stosunek masy wody w kolbie do masy wody w pipecie,
- pomiar współmierności powtórzyć 3 razy.

Kolejne wyniki oznaczenia masy wody z pipety nie powinny się różnić między sobą więcej niż o 0,01 g, a wyniki pomiaru masy wody w kolbie – nie więcej niż o 0,1 g. Do wyznaczania współmierności nie używa się świeżo destylowanej wody, lecz taką, która stała w laboratorium przez pewien czas.

Odmierzanie wody pipetą najlepiej wykonać następująco:

- napełnić pipetę wodą destylowaną do 1/5 do jej objętości,
- opłukać wewnętrzną powierzchnię pipety, zmieniając jej położenie na poziome,
- płukanie wnętrza pipety powtórzyć 3-krotnie,
- napełnić pipetę wodą nieco powyżej kreski, wyjąć z wody, osuszyć z zewnątrz bibułą i w pozycji pionowej wypuścić nadmiar wody kroplami, aż dolny menisk wody zatrzyma się na kresce (oko powinno znajdować się na poziomie kreski),
- usunąć zbędną wodę z końcówki pipety (kroplę lub część kropli) przez dotknięcie końcem pipety do suchej ścianki naczynia z wodą destylowaną,
- wlać wodę z pipety do naczynka wagowego (dotknąć pochyloną pipetą do ścianki naczynka i pozwolić na swobodny wypływ), po wypłynięciu wody, utrzymać pipetę w tej samej pozycji jeszcze przez 15 s.

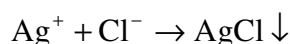
Nie wolno wytrząsać reszty wody z pipety, ani wydmuchiwać, ani dotykać końcówką pipety do wody!

3. Przykłady analiz miareczkowych

3.1. Oznaczanie chlorków metodą potencjometryczną

Oznaczanie chlorków metodą potencjometryczną jest miareczkowaniem bezpośrednim i wytrąceniowym należącym do argentometrii (wytrącanie związków srebra).

Jony chlorkowe reagują z azotanem(V) srebra(I) a punkt końcowy miareczkowania oznacza się potencjometrycznie, używając elektrody szklanej i srebrowej. Objętość zużytego titranta odczytuje się z krzywej miareczkowania potencjometrycznego i oblicza stechiometrycznie wg zachodzącej reakcji:

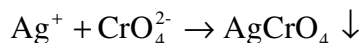


Ograniczenia metody:

- chromiany(VI) i dichromiany(VI) należy usunąć lub zredukować do chromu(III),
- jony żelaza(III) przeszkadzają, jeśli są w stężeniu większym niż chlorki,
- heksacyjanożelaziany(II) zawyżają wyniki i należy je usunąć,
- jodki i bromki miareczkują się tak, jak chlorki.

3.2. Oznaczanie chlorków metodą Mohra

Oznaczanie chlorków metodą Mohra jest miareczkowaniem opartym na tej samej reakcji wytrącania nierozpuszczalnego osadu chlorku srebra, a punkt końcowy miareczkowania jest wyznaczany wizualnie z zastosowaniem chromianu(VI) potasu, jako wskaźnika. W środowisku obojętnym, po wytrąceniu wszystkich jonów chlorkowych, nadmiar jonów srebra wytrąca się w postaci chromianu(VI) srebra(I), którego brunatnoczerwone zabarwienie wskazuje punkt końcowy miareczkowania.



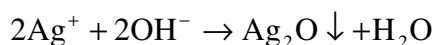
W miareczkowaniu wytrąceniowym występują zjawiska, które należy uwzględnić podczas określania punktu równoważnikowego. Chromian(VI) srebra(I) lepiej rozpuszcza się w wodzie niż AgCl i w punkcie równoważnikowym miareczkowania nie pojawi się czerwono-brunatne zabarwienie od osadu a dopiero po wprowadzeniu pewnego nadmiaru roztworu AgNO₃. Jest to powodem dodatniego błędu miareczkowania.

Odczyn miareczkowanego roztworu powinien być obojętny. W roztworach kwaśnych zmniejsza się ilość jonów CrO₄²⁻ na skutek łączenia się ich z jonami wodorowymi:



W bardzo kwaśnych roztworach osad chromianu(VI) srebra(I) nie wytrąca się.

W roztworach alkalicznych, o pH > 10,5, jony srebra nie reagują z K₂CrO₄, a wytrącają się w postaci Ag₂O:



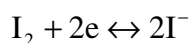
W oznaczaniu chlorków metodą Mohra przeszkadzają inne aniony, tworzące w roztworach obojętnych trudnorozpuszczalne sole srebra(I) oraz kationy tworzące trudnorozpuszczalne chromiany(VI). Są to: Br⁻, I⁻, AsO₄³⁻, PO₄³⁻, CO₃²⁻ oraz Ba²⁺, Pb²⁺. Przeszkadzają również związki redukujące AgNO₃ do srebra metalicznego (np. jony Fe²⁺).

Osady chlorku srebra(I) mają bardzo rozwiniętą i aktywną powierzchnię. W trakcie szybkiego powstawania osadu drobne jego cząstki mogą tworzyć koloidy, co utrudnia ustalenie PK. Aby zapobiec temu zjawisku, do roztworu miareczkowanego należy dodać elektrolitu i energicznie skłócać próbkę. Na aktywnej powierzchni osadów mogą adsorbować się sole, szczególnie te, które mają wspólny jon z osadem. Tworzący się w metodzie Mohra osad AgCl będzie adsorbował oznaczane jony chlorkowe, przez co nie wejdą one w reakcję z azotanem(V) srebra(I). Aby zapobiec temu zjawisku, powodującemu błędy miareczkowania, należy kolbę z osadem energicznie wytrząsać.

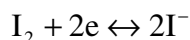
3.3. Oznaczanie tlenu rozpuszczonego w wodzie metodą Winklera

Jednym ze sposobów oznaczania TR w wodzie jest redoksymetryczna analiza miareczkowa, znana pod nazwą **metody Winklera**. Jest to pośrednia i podstawieniowa metoda miareczkowania, zaliczana do jodometrii.

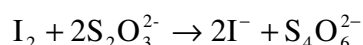
Podstawą w jodometrii jest odwracalna reakcja jodu:



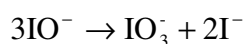
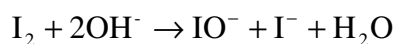
i dotyczy miareczkowania mianowanym roztworem jodu jak i miareczkowanie wydzielonego jodu tiosiarczanem(VI) sodu. Substancje, które można bezpośrednio miareczkować mianowanym roztworem jodu, mają potencjały utleniające niższe od potencjału układu $I_2/2I^-$. Podczas miareczkowania zachodzi reakcja redukcji jodu przez oznaczane substancje:



Substancje o potencjale utleniającym wyższym niż potencjał układu $I_2/2I^-$ utleniają jony jodu do wolnego jodu. Wydzielony jod, w ilości równoważnej do ilości substancji oznaczanej, miareczkuje się mianowanym roztworem tiosiarczanu(VI) sodu $Na_2S_2O_3$, który utlenia się do tetratationianu sodu $Na_2S_4O_6$:

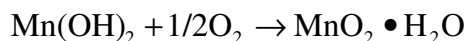
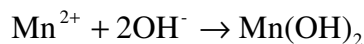


Potencjał układu $I_2/2I^-$ nie zmienia się do pH = 8. Powyżej pH 8, w roztworach alkalicznych, potencjał ten maleje, gdyż zachodzą reakcje, które zmniejszają stężenie jodu:

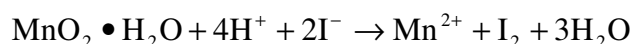


To powoduje, że miareczkowanie tiosiarczanu(VI) jodem i odwrotnie, w środowisku alkalicznym jest niemożliwe.

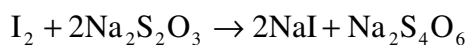
Zasada miareczkowania metodą Winklera polega na tym, że rozpuszczony tlen utlenia (w środowisku alkalicznym) wprowadzone do próbki jony Mn^{2+} do uwodnionego ditlenku manganu(IV).



Powstały ditlenek manganu, po zakwaszeniu próbki, utlenia dodany uprzednio nadmiar jodku sodu:



Powstaje wolny jod w ilości równoważnej do zawartości tlenu w badanej próbce wody. Wydzielony jod oznacza się przez miareczkowanie tiosiarczanem sodu:

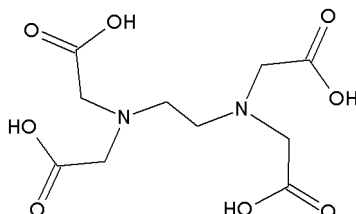


Koniec miareczkowania oznacza się wizualnie. Jod w roztworze wodnym jodku wykazuje żółte lub brunatne zabarwienie. W PK, gdy cały wolny jod przereaguje z tiosiarczanem sodu, następuje zanik zabarwienia. Dokładniejszym wskaźnikiem jest wodna zawiesina skrobi, która już ze śladowymi ilościami jodu tworzy charakterystyczne, granatowe zabarwienie. W punkcie końcowym miareczkowania następuje zanik granatowego zabarwienia.

3.4. Kompleksonometryczne oznaczanie niklu

Kompleksometria jest działem analizy objętościowej, w której podstawową reakcją jest tworzenie rozpuszczalnych i słabo zdysocjowanych kompleksów. W zależności od budowy odczynnika kompleksującego, mogą powstawać kompleksy jednomiejscowe lub kompleksy chelatowe. Szczególne znaczenie w kompleksometrii mają kwasy aminopolikarboksyłowe, zawierające grupy karboksylowe i

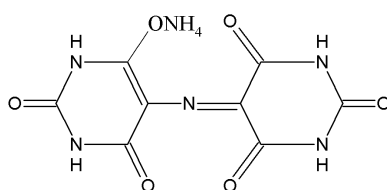
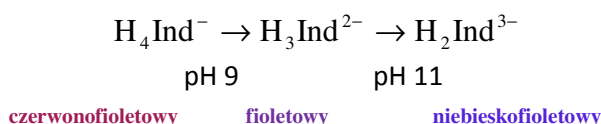
azot w położeniu umożliwiającym tworzenie trwałych pierścieni chelatowych. Kwasy aminopolikarboksylowe nazwano kompleksonami, z których najbardziej znanym jest kwas etyleno-diamino N,N'-tetraoctowy, zwanym w skrócie EDTA. Inne nazwy EDTA to kwas wersenowy, komplekson II i chelaton 2. Jego wzór chemiczny (rysunek 2) jest zastępowany skrótem H₄Y lub H₄EDTA.



Rysunek 2. Budowa cząsteczki kwasu etyleno-diamino N,N'-tetraoctowego

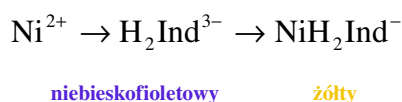
Kwas wersenowy jest słabo rozpuszczalny w wodzie, najczęściej stosuje się go w postaci dwuwodnej soli sodowej Na₂H₂EDTA · 2H₂O (skrót EDTA odnosi się również do soli, która jest częściej stosowana niż sam kwas). Funkcjonują następujące nazwy handlowe soli sodowej kwasu wersenowego: komplekson III, chelaton 3, trilon, titriplex III, sekwestren, Nullapon, Versene i wersenian sodu. EDTA tworzy z większością kationów dwu-, trój- i czterowartościowych metali bardzo trwałe i łatwo rozpuszczalne w wodzie kompleksy chelatowe, najtrwalsze - z kationami dwu- i trójwartościowych metali.

W kompleksometri stosowane są głównie wskaźniki metalochromowe. W miareczkowaniu kompleksometrycznym jonów niklu stosuje się mureksyd. Jest to sól amonowa kwasu purpurowego (rysunek 3), która tworzy nietrwałe połączenia kompleksowe z jonami niklu, miedzi i kobaltu koloru żółtego w roztworach z amoniakiem. Zabarwienie samego mureksydu (zapisuje się go skrótem H₄Ind⁻), zależy od pH roztworu:



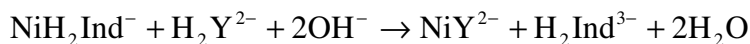
Rysunek 3. Budowa cząsteczki mureksydu (soli amonowej kwasu purpurowego)

Oznaczanie jonów niklu(II) metodą kompleksometryczną polega na miareczkowaniu roztworem mianowanym (standardowym) EDTA wobec mureksydu, jako wskaźnika. Mureksyd dodany do próbki wody, zawierającej jony niklu(II), w środowisku amoniakalnym o pH. > 11, tworzy z nimi żółty kompleks:



W czasie miareczkowania, EDTA wypiera z kompleksu mureksyd i tworzy z jonami niklu trwałe i łatwo rozpuszczalne w wodzie kompleksy. W punkcie równoważnikowym miareczkowania wszystkie

jony Ni(II) zostają związane z EDTA, barwa żółta zanika, a powraca niebieskofioletowe zabarwienie od mureksydu:



żółty

niebieskofioletowy

Kation nikiel tworzy z mureksydem trzy, istniejące w równowadze i różniące się zabarwieniem, kompleksy. W zależności od pH, równowaga jest przesunięta w jedną lub drugą stronę.

Podczas miareczkowania nikiel za pomocą EDTA, reagują także inne jony obecne w próbce. Jony miedzi i kobaltu można przed oznaczeniem nikiel oddzielić ekstrakcyjnie, stosując np. dietyloditiokarbaminian sodowy i 1-nitrozo-2-naftol. Małe ilości miedzi można maskować tiosiarczanem sodu. Małe ilości jonów żelaza(III), glinu i manganu można maskować trietanolaminą, większe ilości należy usuwać, przed miareczkowaniem nikiel. Pierwiastki ziem alkalicznych i ziem rzadkich należy wytrącać w postaci fluorków.

EDTA reaguje z jonami Ni^{2+} oraz innymi jonami, niezależnie od ich wartościowości, w stosunku molowym 1÷1.

3.5. Oznaczenie zawartości wodoru i glinu wymiennego w próbkach gleby

Aby oznaczyć zawartość wodoru i glinu w postaci wymiennej trzeba je wyizolować z gleby za pomocą roztworu chlorku wapnia CaCl_2 , chlorku baru BaCl_2 lub chlorku potasu KCl. Za najskuteczniejszy w wymywaniu glinu wymiennego z gleby (czasami nazywanego glinem ruchomym) uważa się 1 M roztwór chlorku potasu.

Oznaczenie zawartości wodoru i glinu w postaci wymiennej w ekstrakcie chlorku potasu wykonuje się m.in. za pomocą:

- miareczkowania potencjometrycznego,
- miareczkowania konduktometrycznego,
- miareczkowania roztworem wodorotlenku sodu próbek bez i po usunięciu jonów glinu z roztworu (metoda Sokołowa),
- miareczkowania roztworem wodorotlenku sodu, wytrącenia glinu i miareczkowania kwasem chlorowodorowym, powstałego w reakcji, wodorotlenku potasu - odpowiadającego ilości wytrąconego glinu.

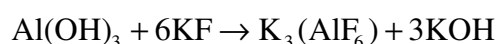
Do miareczkowania potencjometrycznego i konduktometrycznego używa się zawiesiny gruntu w roztworze soli obojętnej. W czasie miareczkowania, wraz ze zmianą pH roztworu, pojawiają się kolejne skoki na krzywej miareczkowania, odpowiadające ilości wymiennego wodoru i glinu. Różne formy występowania glinu (wodorotlenki i ich polimery) i ich wielostopniowa dysocjacja sprawiają, że zachowują się one w czasie miareczkowania jak kwasy o różnej mocy. Wynikiem tego na krzywej miareczkowania jest wiele skoków, nie zawsze jednoznacznych. Przyjmuje się pewne zasady interpretacji wyników:

- zaadsorbowane wodorotlenki glinu (monomery) są zobojętniane stopniowo przy pH 4-5,5,
- polimeryczne - przy pH 5-7,

- powierzchnie wielkocząsteczkowych polimerów wodorotlenków glinu przy pH powyżej 7.

W metodzie Sokołowa, ilość glinu wymiennego oznacza się z różnicy między kwasowością wymienną a kwasowością wynikającą tylko z obecności wodoru wymiennego. W tym celu miareczkuje się wodorotlenkiem sodu (miareczkowanie alkalimetryczne, bezpośrednie) dwa równoległe ekstrakty gleby w roztworze KCl, przy czym z jednego usuwa się glin (przez wytrącenie) w postaci heksafluoroglinianu sodu, $\text{Na}_3(\text{AlF}_6)$ (główny składnik kriolitu).

Inna wersja metody oznaczania glinu wymiennego w ekstrakcie gleby w 1 M roztworze KCl polega na miareczkowaniu najpierw roztworem wodorotlenku sodu (miareczkowanie alkalimetryczne, bezpośrednie), oznacza się w ten sposób kwasowość wymienną, następnie wytrąca się glin w postaci heksafluoroglinianu potasu - $\text{K}_3(\text{AlF}_6)$:



i miareczkuje **kwadem chlorowodorowym** powstały w reakcji **wodorotlenek potasu** (miareczkowanie acydymetryczne, podstawieniowe). Ilość moli kwasu chlorowodorowego zużyta do miareczkowania wodorotlenku potasu, podzielona przez 3, daje ilość moli glinu wymiennego.

Kwasowość wymienną podaje się w ilości mmoli NaOH zużytego na miareczkowanie ekstraktu odpowiadającego 100 g suchej masy gleby,

$$K_w [\text{mmol}/100\text{g} \cdot \text{s.m}]$$

Zawartość glinu wymiennego podaje się w mmolach Al^{3+} na 100 g suchej masy gleby,

$$\text{Al}_w^{3+} [\text{mmol}/100\text{g} \cdot \text{s.m}]$$

4. Literatura

1. Cygański, A. *Chemiczne metody analizy ilościowej*; WNT: Warszawa, 1994.
2. Dojlido, J. (red.) *Fizyko-chemiczne badanie wody i ścieków*; Wydawnictwo "Arkady": Warszawa, 1999.
3. Grabowska-Olszewska, B. (red.) *Metody Badań gruntów spoistych*; Wydawnictwo Geologiczne: Warszawa, 1980.
4. Kocjan, R. (red.) *Chemia analityczna. Podręcznik dla studentów*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL: Warszawa, 2000.
5. Myślińska, E. *Badania laboratoryjne gruntów*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2001.
6. Myślińska, E. *Grunty organiczne i laboratoryjne metody ich badania*; Wydawnictwo Naukowe PWN: Warszawa, 2001.
7. Kmiecik, E. Ocena stanu chemicznego wód podziemnych w oparciu o wyniki badań monitoringowych; Krakow 2009; home.agh.edu.pl/~ek/b/ocena_stanu.pdf