

Metoda oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) z zastosowaniem chromatografu gazowego (GC/MSD) oraz automatycznego systemu przygotowania próbek (ASE 200)

Ewa Grabiec-Raczak*, Barbara Kamińska*, Magdalena Kocon*

A method of determination of polycyclic aromatic compounds (PAHs) by using gas chromatograph (GC/MSD) and accelerated solvent extractor (ASE200). *Prz. Geol.*, 50: 687–690.

S u m m a r y. This paper deals with a new method of determining polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by means of modern laboratory instruments: the extraction method with the so-called accelerated solvent extractor (ASE) and the chromatography analysis with a Perkin Elmer gas chromatograph. This equipment can be used to determine the degree of pollution in soils, sediments and in other types of matrices. These methods can be, therefore, widely applied environmental protection research.

Key words: chromatography, analyses of organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne są szeroko rozpowszechnione w środowisku człowieka. Występują one zarówno jako związki naturalne w środowisku, np. produkty przemian próchnicznych pod wpływem mikroorganizmów glebowych, jak również jako antropogeniczne zanieczyszczenia: w pyłach przemysłowych, produktach procesów niepełnego spalania paliw węglowych i ropopochodnych, dymie papierosowym, spalanych odpadach komunalnych i przemysłowych (Bojakowska & Sokołowska, 1998).

WWA tworzą się i są wprowadzane do środowiska także wskutek pożarów lasów i torfowisk, powstają też w wyniku działalności wulkanicznej, procesów i reakcji geochemicznych, np. w przemianach materii organicznej prowadzących do powstania ropy naftowej. Wraz z pyłowymi zanieczyszczeniami powietrza atmosferycznego WWA przedostają się do gleby, wody i żywych organizmów (Bojakowska & Sokołowska, 1998).

W niniejszej pracy pokazano metody wyodrębniania węglowodorów aromatycznych z próbek stałych, zagęszczania ilości śladowych tych związków do poziomu umożliwiającego detekcję, rozdzielania mieszaniny WWA na poszczególne związki przy użyciu techniki chromatografii gazowej, identyfikacji i określenia zawartości rozdzielanych związków przy zastosowaniu detektora spektrometru masowego.

Najczęściej stosowanymi metodami wyodrębniania związków organicznych z różnych matryc są metody klasycznej ekstrakcji rozpuszczalnikowej (Biziuk i in., 1990).

Metody dotyczące ekstrakcji analitów z matryc stałych, opracowane w postaci norm Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (U.S. EPA) oraz norm niemieckich (Deutsche Norm–DIN) są oparte na wykorzystaniu ekstrakcji w aparacie Soxhleta, który służy do izolacji i wzbogacania próbek w anality średnio i trudno lotne.

Natomiast nowo wprowadzane urządzenia do ekstrakcji pracują w warunkach zwiększonego ciśnienia i temperatury, które wpływają korzystnie na wydajność procesu. Podwyższona temperatura zwiększa zdolność rozpuszczalnika (dichlorometanu) do rozpuszczania analitu poprzez

zmniejszenie jego lepkości, co pozwala na lepszą jego penetrację między cząsteczkami matrycy. Stosowanie odpowiedniego ciśnienia podczas ekstrakcji umożliwia użycie rozpuszczalników w stanie ciekłym powyżej ich temperatury wrzenia oraz ułatwia ekstrakcję analitu z porów matrycy (Gacy i in., 1999).

Wszystkie te właściwości wykorzystuje nowy w pełni zautomatyzowany aparat do ekstrakcji ASE 200 (Accelerated Solvent Extractor).

Metody badań

Współczesna analiza śladowych ilości związków organicznych, a więc również WWA, prowadzona jest niemal wyłącznie za pomocą chromatografii gazowej (Biziuk i in., 1990).

W Centralnym Laboratorium Chemicznym Państwowego Instytutu Geologicznego opracowano metodę oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych przy zastosowaniu chromatografu gazowego firmy Perkin–Elmer z detektorem spektrometrem masowym (GC/MSD).

W tym systemie zastosowano tradycyjny sposób dozowania do kolumny chromatograficznej — dozownik typu *split/splitless* (z/bez podziału strumienia).

Chromatograf gazowy został wyposażony w system elektronicznego sterowania ciśnieniem gazu (PPC — programowalny regulator ciśnienia), w którym jest możliwe programowanie przepływu gazu nośnego (helu), jego ciśnienia i prędkości liniowej oraz sterowanie przepływem i podziałem strumienia gazu w dozowniku i jego przepływem w detektorze (patrz *AutoSystem XL GC...*, 1997–2000).

Pierwszym etapem opracowania metody analizy chromatograficznej było takie dobranie warunków pracy chromatografu, aby uzyskać rozdzielanie mieszaniny WWA na kolumnie kapilarnej (Biziuk i in., 1990).

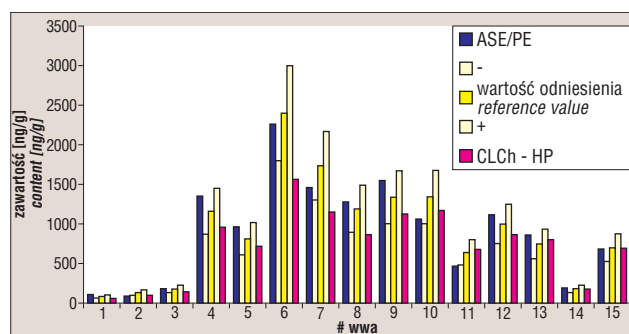
Detektor MS pracował w tzw. trybie SCAN czyli monitorowania zakresu mas (40–500 ajm), co umożliwiło porównanie otrzymanego widma pików z widmem zarejestrowanym w bibliotekach NIST oraz Wiley komputera. Pozwoliło to na oznaczenie czasu retencji WWA i ich identyfikację (patrz *AutoSystem XL GC...*, 1997–2000).

Doświadczalnie ustalono gradient temperatury, który bezpośrednio po dozowaniu próbką był dość wysoki — 10°C/min., a następnie, po osiągnięciu 200°C, został

*Państwowy Instytut Geologiczny, ul. Rakowiecka 4, 00-975 Warszawa

Ryc. 1. Graficzna prezentacja wyników przedstawionych w tab.1

Fig. 1. Graphic presentation of results given in tab. 1



zmniejszony do 2,5°C/min. Pozwoliło to na uniknięcie efektu rozmycia pików, a także na dobre rozdzielenie mieszaniny WWA. Dobrano również doświadczalnie prędkość przepływu gazu nośnego przez kolumnę — 35 cm/s, przy której udało się uzyskać optymalne rozdzielanie pików wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (szczególnie benzo[a]antracenu i chryzenu oraz benzo[b]fluorantenu i benzo[k]fluorantenu). Ponieważ przedmiotem analizy była wieloskładnikowa próbka, nie było możliwe zidentyfikowanie poszczególnych substancji jedynie na podstawie czasu retencji, trzeba było zastosować, tzw. tryb SIR (*Selected Ion Recording*), w którym monitorowano poszczególne jony charakterystyczne dla oznaczanych WWA (152, 154, 166, 178, 202, 228, 252, 276, 278). Pozostałe parametry pracy detektora: napięcie fotopowielacza, na soczewkach kwadrupola były ustawiane automatycznie w czasie strojenia. Doświadczalnie ustalono czas zliczania: 0,1 s dla wszystkich mas, oraz czas pomiędzy zakończeniem zliczania dla danej masy a rozpoczęciem zliczania dla następnej wartości masy jonu — 0,02 s.

W celu przeprowadzenia kalibracji, czyli ustalenia zależności między sygnałem analitycznym a poszukiwanym stężeniem lub ilością oznaczanego składnika, zastosowano metodę porównania z wzorcem zewnętrznym ULTRAScientific — „PAH Mixture in Methylene Chloride”

Tab. 1. Zestawienie wyników analiz próbki gleby ilastej Setoc-740 przygotowanej i oznaczonej metodą ASE/PE z wartością odniesienia oraz wynikami otrzymanymi wcześniej w CLCh w [ng/g]

Table 1. Results of analyses of Setoc-740 clay soil prepared and determined with a ASE/PE method with reference values and results obtained earlier in the Central Chemical Laboratory [in ng/g]

Nr	Nazwa związku	ASE/PE	Wartość odniesienia	Przedział akceptowalny	CLCh-HP
1	acenaftylen	110	84	63–105	58
2	acenaften	89	134	100–167	99
3	fluoren	184	179	134–224	144
4	fenantren	1354	1160	870–1450	961
5	antracen	963	813	610–1016	719
6	fluoranten	2261	2398	1799–2998	1563
7	piren	1461	1736	1302–2170	1150
8	benzo[a]antracen	1278	1190	893–1488	866
9	chryzen	1550	1337	1003–1671	1127
10	benzo[b]fluoranten	1063	1340	1005–1675	1171
11	benzo[k]fluoranten	469	640	480–800	677
12	benzo[a]piren	1116	1000	750–1250	867
13	indeno[1,2,3-cd]piren	859	749	562–936	801
14	dibenzo[ah]antracen	193	180	135–225	179
15	benzo[ghi]perylen	685	699	524–874	693

zawierającym 15 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.

Funkcję kalibracji, która służy następnie do obliczania nieznanego stężenia analitu w badanym materiale, wyznacza się na podstawie przeprowadzonych pomiarów z odpowiednimi wzorcami. W niniejszej metodzie krzywa kalibracji była

linią prostą, która przechodziła przez początek układu współrzędnych. Odstępstwa od tej linii można stwierdzić, obliczając współczynnik korelacji liniowej (r^2). W przypadku idealnej zależności liniowej $r^2 = 1$, w rzeczywistych sytuacjach $r^2 = 0,99$ jest przyjmowane jako poprawne (Hulanicki, 2001). W omawianym przypadku krzywe były sporządzone automatycznie w programie komputerowym, wynikiem czego są wykresy, wzory krzywych kalibracji oraz współczynniki korelacji. Do sporządzenia opisanych krzywych kalibracyjnych wykonano analizy chromatograficzne siedmiu mieszanin wzorcowych piętnastu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w zakresie stężeń od 500 ng/ml do 200 000 ng/ml.

Próbki do analiz chromatograficznych zostały przygotowane przy zastosowaniu ASE200. Parametry pracy ekstraktora były następujące: ciśnienie 10 MPa, temperatura pieca 100°C, czas ekstrakcji statycznej 10 min., czas ogrzewania próbki 5 min. (patrz ASE 200...).

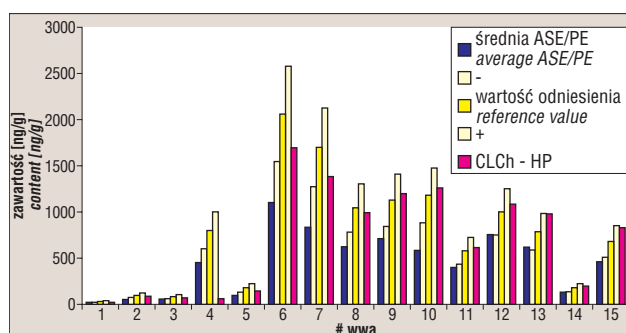
Wnioski

Wykonano wiele analiz w zakresie optymalizacji metody chromatograficznej oraz porównania metod stosowanych rutynowo w CLCh.

Stwierdzono, że stosowany chromatograf gazowy z detektorem spektrometrem masowym firmy Perkin-Elmer nadaje się do identyfikacji i ilościowego oznaczania WWA. Próbki osadów zawierające WWA zostały przesłane do Centralnego Laboratorium Chemicznego z Wageningen Agricultural University w Holandii, zajmującego się międzynarodowym programem porównań międzylaboratoryjnych dotyczących analizy osadów SETOC (*Sediment Exchange for Tests on Organic Contaminants*). W przeprowadzanych badaniach uzyskano bardzo dobre rozdzielanie mieszaniny WWA, a w szczególności: całkowite rozdzielanie pików benzo[a]antracenu i chryzenu oraz bardzo dobre rozdzielanie pików benzo[b]fluorantenu i benzo[k]fluorantenu. Uzyskano bardzo niskie granice oznaczalności analizy, pozwalające oznaczać śladowe ilości związków organicznych.

Na podstawie analizy wymienionych próbek można wysunąć wniosek, że wartości otrzymane w wyniku zastosowania nowo opracowanych metod zgodne są z wartościami odniesienia osadów SETOC. Pokazane to zostało na diagramach porównawczych, z których jeden zamieszcza my (ryc. 1) wraz z tabelą (tab. 1).

Udowodniono także, że w trakcie analiz wykonanych przy zastosowaniu nowo opracowanych metod wszystkie węglowodory (15 WWA) zostały ilościowo oznaczone poprawnie. Przykładem może być zamieszczony tu diagram (ryc. 2) oraz odpowiadająca mu tabela (tab. 2).



Ryc. 2. Graficzna prezentacja wyników przedstawionych w tab.2

Fig. 2. Graphic presentation of results given in tab. 2

Otrzymano dobrą zgodność wyników analiz z zastosowaniem nowo opracowanej metody ekstrakcyjnej (ASE) i rutynowej metody ekstrakcji (Tec), co jest widoczne na diagramach zestawiających wyniki analiz nieznanymi próbek osadów morskiego i rzecznoego. Przykładem może być zamieszczony tu diagram (ryc. 3) oraz odpowiadająca mu tabela (tab. 3).

Wykonane eksperymenty wskazują, że opracowana metoda analizy chromatograficznej stwarza dla bogatej matrycy próbki konieczność monitorowania większej liczby jonów danej substancji, co jednak pociągnie za sobą zmniejszenie ilości analizowanych związków podczas jednego dozowania. Należałoby przeprowadzić kolejne eksperymenty dotyczące tego zagadnienia (Gacy i in., 1999).

Badania wykazały dobrą precyzję i powtarzalność stosowanej metody analitycznej. W porównaniu z ekstrakcją klasyczną przy użyciu aparatu Soxhlet, zaletą techniki ASE jest znaczna redukcja ilości zużytych rozpuszczalników, łatwość postępowania z próbką i pełną automatyzację procesu.

Tab. 2. Zestawienie wyników analiz gleby gliniastej Setoc-756 z wartością odniesienia oraz wynikami otrzymanymi wcześniej w CLCh w [ng/g]

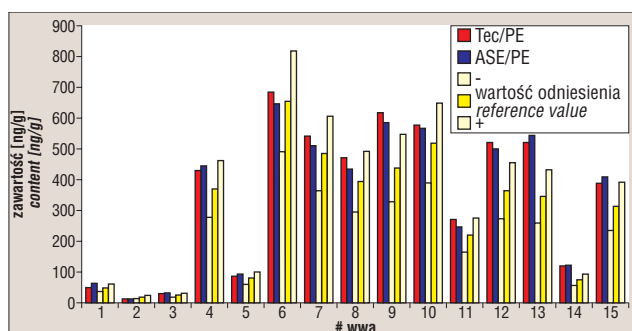
Table 2. Results of analyses of Setoc-756 loam soil prepared and determined with a ASE/PE method with reference values and results obtained earlier in the Central Chemical Laboratory [in ng/g]

Nr	Nazwa związku	ASE/PE	ASE/PE	ASE/PE średnia	Wartość odniesienia	Przedział akceptowalny	CLCh-HP
1	acenaftylen	25	22	23	30	22-37	23
2	acenaften	50	53	51	97	73-121	86
3	fluoren	55	55	55	83	62-104	69
4	fenantren	457	446	452	800	600-1000	60
5	antraceni	101	95	98	178	134-223	144
6	fluoranteni	1117	1090	1104	2062	1547-2578	1696
7	piren	845	822	834	1700	1275-2125	1385
8	benzo[a]antraceni	644	600	622	1045	784-1306	992
9	chryzen	724	699	712	1127	845-1409	1199
10	benzo[b]fluoranteni	602	563	583	1180	885-1475	1261
11	benzo[k]fluoranteni	494	307	401	580	435-725	614
12	benzo[a]piren	796	717	757	1000	750-1250	1085
13	indeno[1,2,3-cd]piren	633	610	622	786	590-983	980
14	dibenzo[ah]antraceni	137	128	133	180	135-225	198
15	benzo[ghi]perylene	471	452	462	682	512-853	829

Tab. 3. Zestawienie wyników analiz próbek osadu rzeczego Setoc-701 przygotowanych dwiema metodami ekstrakcji z wartością odniesienia w [ng/g]

Table 3. Results of analyses of Setoc-701 marine sediment prepared and determined with a ASE/PE method with reference values and results obtained earlier in the Central Chemical Laboratory [in ng/g]

Nr	Nazwa związku	Tec/PE średnia	ASE/PE średnia	Wartość odniesienia	Przedział akceptowalny
1	acenaftylen	50	64	48	36–61
2	acenaften	13	13	19	14–24
3	fluoren	30	32	25	19–31
4	fenantren	430	445	370	278–463
5	antracen	86	93	81	60–101
6	fluoranten	684	646	655	491–819
7	piren	542	511	485	364–606
8	benzo[a]antracen	472	434	394	296–493
9	chryzen	618	585	438	329–548
10	benzo[b]fluoranten	578	567	519	389–649
11	benzo[k]fluoranten	271	247	220	165–275
12	benzo[a]piren	521	500	364	273–455
13	indeno[1,2,3-cd]piren	521	544	346	260–433
14	dibenzo[ah]antracen	120	122	75	56–94
15	benzo[ghi]perylene	388	410	313	235–391

**Ryc. 2.** Graficzna prezentacja wyników przedstawionych w tab. 2
Fig. 2. Graphic presentation of results given in tab. 2

Opracowana metoda analizy chromatograficznej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych będzie mogła być stosowana po niewielkich modyfikacjach do oznaczania innych związków organicznych.

Literatura

- *AutoSystem XL GC (volume 1, 2) User's Manual, PerkinElmer, Instruments LLC, 1997–2000.
 ASE 200 Accelerated Solvent Extractor–Operator's Manual, Dionex Corporation Document No.031149, Revision 04 December 1999.
 BIZIUK M., CHRZANOWSKI W., GAZDA K., T.GÓRECKI, MAKUCH B., NAMIEŚNIK J., PRZYJAZNY A., SIENKOWSKA E. & STASZEWSKI R. 1990 — Kontrola chemiczna zanieczyszczeń środowiska. Politechnika Gdańska.
 BOJAKOWSKA I. & SOKOŁOWSKA G. 1998 — Tło geochemiczne wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w glebach leśnych. Prz. Geol., 46: 1083–1090.
 GACY J., MARCINIEC B. & ŻAKA S. 1999 — Metody analityczne w badaniach substancji szkodliwych i niebezpiecznych, Bydgoszcz.
 HULANICKI A. 2001 — Współczesna chemia analityczna, wybrane zagadnienia, PWN.
 TurboMass GC Mass Spectrometer Hardware Guide, PerkinElmer, Instruments LLC, 1997–2000.