CHEMIA

Analiza próbek środowiskowych i przemysłowych

Identyfikacja chlorofenoli metodą chromatografii gazowej GC-FID

Opracowane przez:
Ewa Lorenc-Grabowska

Wrocław 2025

I. WSTĘP

1. Chlorofenole w środowisku – pochodzenie i zagrożenia

Chlorofenole to grupa związków chemicznych będących pochodnymi fenolu, w których atomy wodoru w pierścieniu aromatycznym zostały zastąpione atomami chloru. W zależności od liczby i położenia podstawników chlorowych wyróżnia się mono-, di-, tri-, tetra- i pentachlorofenole. Związki te są stosunkowo trwałe, toksyczne oraz słabo biodegradowalne, co sprawia, że ich obecność w środowisku budzi uzasadnione obawy ekologiczne i zdrowotne.

Źródła chlorofenoli w środowisku

Źródła antropogeniczne

Główne źródła emisji chlorofenoli do środowiska związane są z działalnością przemysłową człowieka:

Przemysł chemiczny – Chlorofenole są używane jako półprodukty do syntezy pestycydów, barwników, leków oraz środków konserwujących. Szczególnie niebezpieczny jest pentachlorofenol (PCP), który znalazł szerokie zastosowanie w rolnictwie i leśnictwie.

Konserwacja drewna – PCP i inne chlorofenole były używane do impregnacji drewna jako środki grzybo- i owadobójcze. Ich stosowanie zostało ograniczone w wielu krajach ze względu na trwałość i toksyczność.

Spalanie odpadów i paliw – Podczas niepełnego spalania materiałów organicznych zawierających chlor (np. PVC) mogą powstawać chlorofenole oraz dioksyny.

Chlorowanie wody – W trakcie dezynfekcji wody chlorowej może dojść do reakcji chloru z fenolami naturalnie występującymi w wodzie, czego efektem są powstające chlorofenole.

Ścieki przemysłowe i komunalne – Przemysł chemiczny, papierniczy oraz oczyszczalnie ścieków mogą być źródłem emisji chlorofenoli, które następnie trafiają do wód powierzchniowych i gleb.

Źródła naturalne

Związki chlorofenolowe mogą być produkowane w niewielkich ilościach przez niektóre mikroorganizmy (np. bakterie morskie, grzyby), jednak ich udział w ogólnym zanieczyszczeniu środowiska jest marginalny.

Wpływ na środowisko i zdrowie

Chlorofenole są związkami potencjalnie niebezpiecznymi ze względu na:

Toksyczność – Wykazują działanie toksyczne wobec wielu grup organizmów, m.in. planktonu, ryb i ssaków. Nawet niewielkie stężenia mogą prowadzić do zaburzeń metabolicznych i reprodukcyjnych.

Trwałość i odporność na degradację – Chlorofenole są związkami słabo biodegradowalnymi, przez co mogą utrzymywać się w środowisku przez długi czas i transportować się na duże odległości.

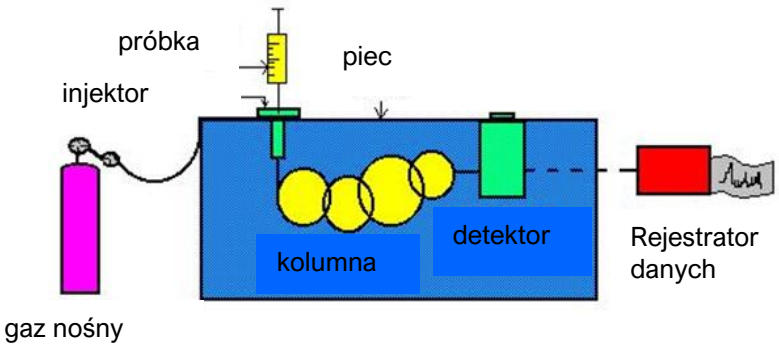
Bioakumulację – Ze względu na właściwości hydrofobowe mogą kumulować się w tkankach tłuszczowych organizmów, prowadząc do efektów toksycznych na wyższych poziomach troficznych.

Mutagenność i kancerogenność – Niektóre chlorofenole (np. PCP) wykazują działanie mutagenne i mogą zwiększać ryzyko rozwoju nowotworów.

Chlorofenole są trwałymi zanieczyszczeniami organicznymi (POP – persistent organic pollutants), które wykazują wysoką toksyczność, bioakumulatywność oraz odporność na rozkład. Ich obecność w środowisku wynika głównie z działalności człowieka, zwłaszcza w sektorze przemysłowym. Konieczne są działania zmierzające do ograniczenia emisji tych związków oraz ich skutecznego usuwania z wód i gleb.

2. Chromatografia gazowa

Chromatografia gazowa (GC) (FIG.1.) jest techniką analityczną dla związków, dla których można dokonać separacji opartej na ich lotności. Chromatografia gazowa dostarcza zarówno jakościowych, jak i ilościowych informacji o poszczególnych związkach obecnych w próbce. Związki przechodzą przez kolumnę GC jako gazy, ponieważ normalnie są gazami lub mogą być ogrzewane i odparowywane do stanu gazowego. Analiza opiera się na podziale związków między fazą stacjonarną, która może być stała lub ciekła, a fazą ruchomą (gazem). Różnicowy podział na fazę stacjonarną pozwala na rozdzielenie związków w czasie i przestrzeni. **Gazem nośnym** jest zazwyczaj hel, wodór lub azot. Służy on jako faza ruchoma, która przesuwa próbkę przez kolumnę. Przepływ gazu nośnego można określić ilościowo za pomocą prędkości liniowej wyrażonej w cm/s lub objętościowego natężenia przepływu wyrażonego w ml/min. Prędkość liniowa jest niezależna od średnicy kolumny, podczas gdy natężenie przepływu zależy od średnicy kolumny. Schemat chromatografu przedstawiono na Rys.1.



Rys.1 Schemat chromatografu gazowego

Główne elementy chromatografu gazowego z detektorem FID

Zbiornik z gazem nośnym

- Gaz nośny to obojętny gaz (np. hel, azot lub wodór), który transportuje próbkę przez kolumnę chromatograficzną.
- Gaz musi być wysokiej czystości, aby zapobiec zakłóceniom w detekcji.

Układ wprowadzania próbki (injektor)

- Umożliwia wprowadzenie małej ilości próbki (cieczy lub gazu) do układu.
- Próbka jest błyskawicznie odparowywana w wysokiej temperaturze i wprowadzana do kolumny za pomocą gazu nośnego.

Kolumna chromatograficzna

- Kluczowy element odpowiedzialny za rozdział składników mieszaniny.
- Może być kolumną kapilarną (o długości do 60 m i średnicy do 0,53 mm) lub pakowaną.
- Znajduje się w piecu chromatograficznym, który zapewnia precyzyjną kontrolę temperatury.

Termostatowany piec (komora kolumny)

- Umożliwia prowadzenie analizy w temperaturze stałej lub programowanej (gradient temperatury).
- Precyzyjna regulacja temperatury jest kluczowa dla rozdzielczości i powtarzalności wyników.

Detektory

W chromatografii gazowej (GC) stosuje się różne typy detektorów w zależności od rodzaju analizowanych związków. Oto najczęściej używane detektory wraz z krótką charakterystyką:

- **FID** (płomieniowo-jonizacyjny, Flame Ionization Detector)
  Wysoka czułość na związki organiczne.
  Działa poprzez spalanie próbki w płomieniu wodór–powietrze i pomiar jonów powstających w wyniku spalania.
  Niewrażliwy na wodę i nieorganiczne gazy.

- **TCD** (termokondukcyjny, Thermal Conductivity Detector)
  Uniwersalny – wykrywa wszystkie związki różniące się przewodnictwem cieplnym od gazu nośnego.
  Mniej czuły niż FID.
  Nieniszczący – umożliwia odzyskanie próbki po detekcji.

- **ECD** (wychwytujący elektrony, Electron Capture Detector)
  Bardzo czuły na związki zawierające halogeny, np. pestycydy czy PCB.
  Działa poprzez wychwytywanie elektronów przez cząsteczki próbki.

Mała czułość na związki nieelektronochłonne.

- **MS** (spektrometria mas, Mass Spectrometry)
  Umożliwia identyfikację i ilościową analizę związków na podstawie ich masy cząsteczkowej i wzorca fragmentacji.
  Bardzo czuły i selektywny.
  Może pracować jako detektor hybrydowy (np. GC-MS).

Detektor FID

Składa się z:

- **Dyszki gazów palnych** – wprowadza wodór i powietrze do komory detekcyjnej.
- **Elektrody zbierającej jony** – rejestruje prąd jonowy powstający w wyniku spalania związków organicznych.
- **Komory spalania** – zachodzi w niej jonizacja.

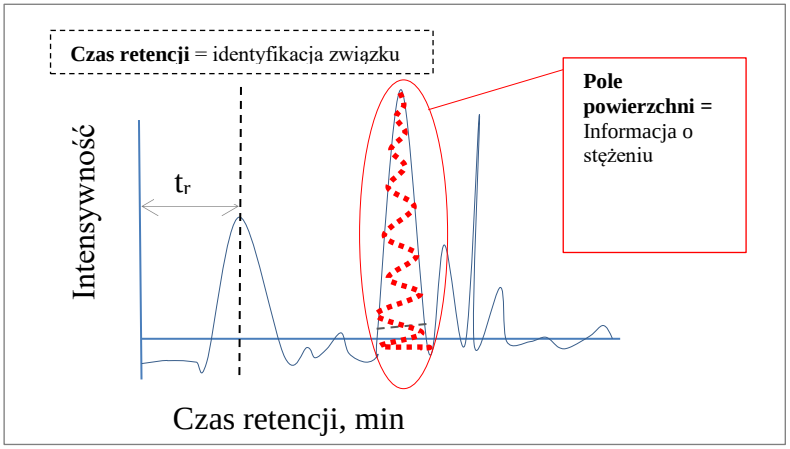
Zasada działania: większość związków organicznych tworzy jony podczas spalania; jony te są zbierane przez elektrodę, a powstały prąd elektryczny jest proporcjonalny do stężenia analizowanego związku.

Zastosowanie detektora FID

Detektor FID znajduje zastosowanie głównie w analizie związków organicznych, takich jak:
Węglowodory alifatyczne i aromatyczne,
Alkohole, ketony, estry, kwasy karboksylowe,
Zanieczyszczenia organiczne w powietrzu, wodzie i glebie,
Analiza paliw, olejów, rozpuszczalników.

3. Identyfikacja związków

W analizie chromatograficznej z zastosowaniem detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID, ang. Flame Ionization Detector) identyfikacja związków chemicznych obejmuje zarówno aspekty jakościowe, jak i ilościowe. Detektor FID, ze względu na swoją wysoką czułość wobec związków organicznych zawierających atomy węgla i wodoru, stanowi jedno z najczęściej stosowanych narzędzi w chromatografii gazowej.



Rys.2. Chromatogram

Analiza jakościowa

Identyfikacja jakościowa związków w chromatografii gazowej z detekcją FID opiera się na porównaniu czasu retencji (tr) analizowanych substancji z czasami retencji znanych standardów. Czas retencji jest definiowany jako czas, w którym dana substancja opuszcza kolumnę chromatograficzną i dociera do detektora. W warunkach kontrolowanych (stała temperatura, przepływ gazu nośnego, identyczna kolumna) czas retencji danego związku jest powtarzalny i charakterystyczny, co umożliwia jego identyfikację. Ze względu na brak zdolności FID do dostarczania informacji strukturalnych, identyfikacja opiera się wyłącznie na zgodności czasów retencji, a w przypadku złożonych mieszanin może wymagać wsparcia ze strony technik komplementarnych, np. GC-MS.

Analiza ilościowa

Oznaczenia ilościowe związków chemicznych przy użyciu detektora FID bazują na pomiarze pola powierzchni pod pikiem chromatograficznym, które jest proporcjonalne do ilości (lub stężenia) związku obecnego w próbce. Sygnał generowany przez FID powstaje w wyniku jonizacji cząsteczek organicznych spalanych w płomieniu wodór–powietrze; powstałe jony są rejestrowane jako prąd jonowy, którego natężenie jest mierzone i przekształcane na sygnał detektora.

W celu uzyskania wyników ilościowych, stosuje się metodę kalibracji z użyciem wzorców o znanym stężeniu. Dla każdego wzorca rejestrowane są pola powierzchni odpowiadających im pików chromatograficznych, a następnie konstruowana jest krzywa kalibracyjna (wykres: pole powierzchni piku vs. stężenie). Na podstawie tej zależności możliwe jest wyznaczenie stężenia nieznanego analitu w próbce badanego materiału

II. WYKONANIE ĆWICZENIA

Cel ćwiczenia:
Celem pracy jest określenie, za pomocą analizy chromatografii gazowej, składu ilościowego i jakościowego mieszaniny mono, di i tri-chlorofenoli rozpuszczonych w różnych rozpuszczalnikach (heptan, acetonitryl, metanol).

Wykonanie ćwiczenia:
Przed rozpoczęciem procedury kalibracji należy sprawdzić aparat GC. Sprawdź, czy kolumna jest odpowiednia dla roztworu używanego do kalibracji, sprawdź przepływy gazów, temperatury: wejścia, kolumny, detektora. Sprawdź możliwe wycieki gazów i jeśli masz pewność, że aparat GC jest gotowy do analizy, rozpocznij procedurę kalibracji.
Kolumna i reżim temperaturowy dla całego systemu muszą być zoptymalizowane dla danego zadania.

Analiza właściwa:
1. Rozpuścić 0,1 mg związku fenolu w 20 ml rozpuszczalnika w szklanej butelce. Związki podaje prowadzący i mogą być różne dla różnych grup.
2. Określić czasy retencji i pola powierzchni pików dla badanych fenoli i rozpuszczalnika. Na podstawie chromatogramów przygotować tabelę zawierającą: czas retencji, wysokość piku i pole powierzchni.

3. Wykonać analizę mieszaniny przygotowanej przez prowadzącego. Na podstawie czasów retencji i wielkości pola pików wyznaczyć skład ilościowy i jakościowy badanej mieszaniny.

Uwaga!
Od studenta wymagana jest podstawowa wiedza dotycząca obliczenia stężeń roztworów i przeliczania ich na różne jednostki miarowe.

III. SPRAWOZDANIE

W sprawozdaniu należy umieścić krótki wstęp opisujący cel badań. Zrobić zestawianie w postaci tabeli. Następnie na podstawie otrzymanych wyników kalibracji dokonać identyfikacji związków mieszaniny otrzymanej do analizy i oszacować ich ilość.

IV. LITERATURA

1. Szczepaniak W., Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, W-wa, 1996.
4.Witkiewicz Z., Podstawy chromatografii, WNT, W-wa, 1995, 2005.
5. Pod redakcją Piotrowski J.K., Podstawy toksykologii, WNT, W-wa, 2006.
6. Pod redakcją Biziuk M., Pestycydy, występowanie, oznaczanie i unieszkodliwianie, WNT, W-wa, 2001.
7. Baird C., Cann M., Environmental Chemistry. W.H. Freeman and Co., 2005.