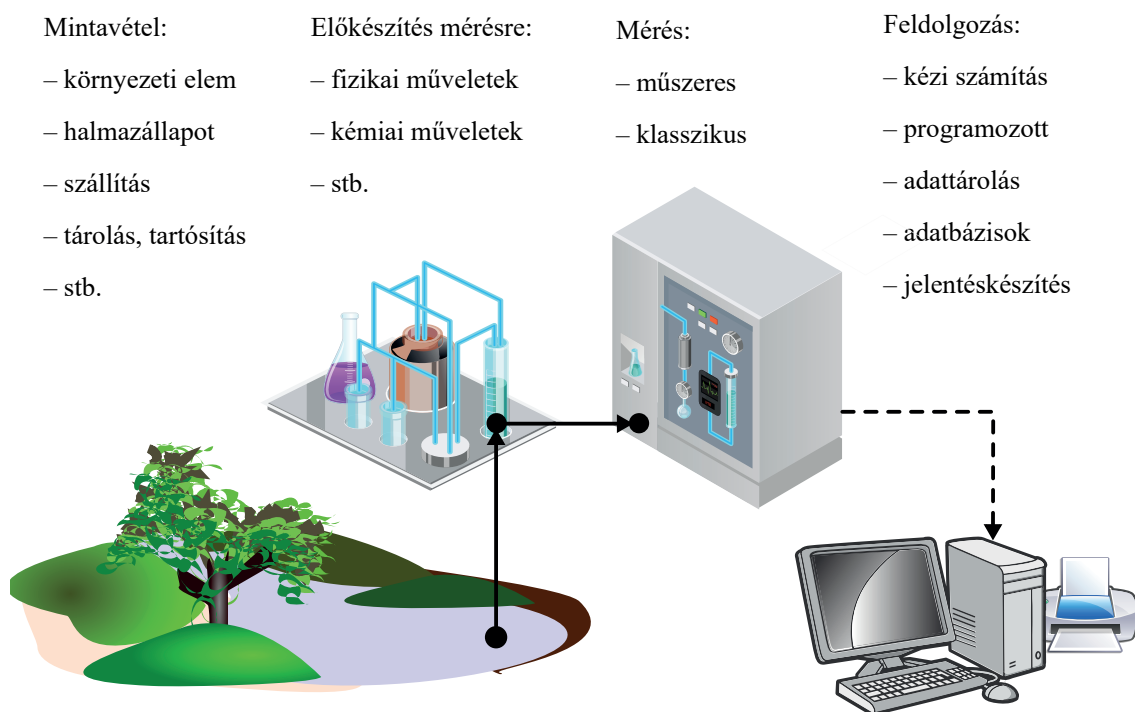


8. Szerves mikroszennyezők kimutatása a környezetből

A szerves mikroszennyező anyagok méréséhez gyakorlatilag a kémia, az analitikai kémia és a biokémia teljes eszköztára rendelkezésünkre áll. Az analitika alkalmazott tudománya ma már annyira szerteágazó, hogy az analitikai vegyészeten belül is egymástól szélsőségesen különböző elméleti és gyakorlati ismereteket igénylő módszerek használhatók. Ezért ebben a fejezetben nem magukat az egyes módszereket kívánjuk teljes mélységükben leírni, hanem az egyes módszerek rövid ismertetésén keresztül érzékeltetni, hogy mely anyagok mérésére lehetnek alkalmasak. Ez talán a lehető legegyszerűbben segíti hozzá az analitika részleteiben kevésbé jártas hallgatókat ahhoz, hogy egy adott, szerves mikroszennyezőkkel kapcsolatos problémához könnyebben meg tudják keresni és ki tudják választani a megfelelő módszert.

Egy környezeti minta vizsgálata minden esetben összetett folyamat, amelyet nem lehet csak egyetlen elv alapján megalkotni. Egy vizsgálati (vagy mérési, analitikai) módszer minden esetben többféle, más-más elven alapuló eljárás összessége, lényegében különböző technikák egymás után vagy egymással párhuzamosan alkalmazott sorozata, amelynek célja egy mért adat előállítás. A legfontosabb munkafolyamatokat általánosságban a 8.1. ábra mutatja be.

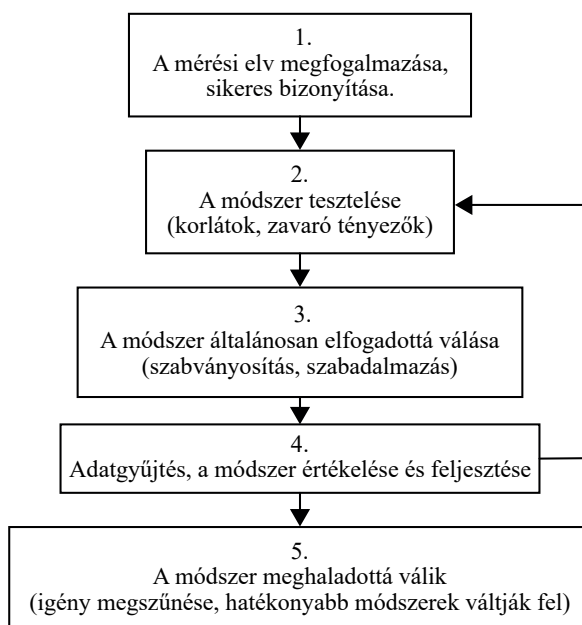


8.1. ábra

Minták analízisének folyamata (Salamon Endre)

Fel kell hívnunk rá a figyelmet, hogy sem a szakirodalom, sem az egyes mérési szabványok nem következettek a különböző mintaféleségek (nyers, vizsgálati, előkezelt, előkészített, tartósított stb.) és műveletek (előkezelés, előkészítés stb.) megnevezésében. A terminológia rendszerint országról országra, szabványról szabványra és jogszabályról jogszabályra változik. Ezért amikor a gyakorlatban egy adott anyag koncentrációját megadjuk, mindig megismételhető módon le kell írni azt a módszert, vagy hivatkozni kell arra a módszerre, amellyel a mérés történt. Szabványos eljárások esetén elegendő a szabványra hivatkozni. Az új mikroszennyező anyagok esetén számos olyan módszer is van, amely vagy egy vállalat vagy más szervezet saját fejlesztése, vagy csak a szakirodalomban érhető el róla leírás.

Érdekes mindenkor szem előtt tartani azt is, hogy a különböző analitikai módszereknek életciklusa is van, amelyet a 8.2. ábra mutat be [1] [2].



8.2. ábra

Analitikai módszerek életciklusa (Salamon Endre)

A döntéshozatal során a 3. és 4. stádiumban levő módszerek alkalmazására kell törekedni. Különösen a szerves mikroszennyezők esetében, a módszerek fejlesztése sokszor nem tart lépést az igényekkel és a szükségletekkel. Az egyetemről frissen kilépő szakembereknek különösen szem előtt kell tartaniuk, hogy léteznek olyan esetek, amikor a jogszabályok, vagy társadalmi elvárások a lehetőségektől elrugaszkodott igényeket támasztanak a mérési módszerekkel szemben (kimutathatóság alatti határérték előírása, elfogadott mérési módszerrel nem rendelkező paraméterek megismerésének vágya). Más esetekben a módszer fejlesztése csak rejtett igényeket szolgál, és a módszerhez kapcsolódó termékekből és szolgáltatásokból befolyó bevétel a fejlesztés ösztönzője. A legtöbb esetben azonban a mérési módszerek soha véget nem érő versenyt futnak a valódi igényekkel, hiszen amint egy új módszerrel egyre többféle anyag mérése válik lehetővé, úgy bővül az újonnan felfedezett és még elfogadott mérési módszerre váró anyagok köre is. Ennek tipikus példái a szintetikus kábítószerek vagy a gyógyszerek piaca: amint egy bizonyos hatóanyag

mérhetővé és betilthatóvá (vagy lemásolhatóvá) válik az egyik oldalon, a másikon (a konkurenciánál) rögtön előkerül az igény egy olyan kifejlesztésére, amely még nem mérhető, nem ismert. Ezért javasoljuk azok számára, akiknek maga az analitika nem feladata, hanem csupán felhasználják eredményeit mindennapi munkájukhoz, hogy csak a kipróbált és bizonyítottan hatékony módszerekhez és a számukra valóban fontossággal bíró anyagok vizsgálatához ragaszkodjanak.

A 8.1. ábrán látható, hogy a mérés általánosságban felsorolt négy lépése, ha minden egyes lépésben néhány száz lehetőség áll is csak rendelkezésre, máris több százezer kombinációt eredményez. Ehhez ráadásul hozzá kell számítanunk, hogy csak maguk a végeredményt szolgáltató mérések, vagy maguk a mérőműszerek is többféle eszköz kombinációiként állíthatók elő. A szerves mikroszennyező anyagok mérési módszerei az esetek legnagyobb részében valamilyen elúciós kromatográfiás eljárást alkalmaznak. Általánosságban elmondható, hogy az illékonyabb (300-400 °C-nál alacsonyabb forráspontú) komponenseket gázkromatográfiás, míg a kevésbé illékonyakat folyadékkromatográfiás módszerekkel mérik. Az eluens halmazállapotán túlmenően a kromatográfiás módszer másik fő meghatározó jellemzője a detektálás módszere. Szerves mikroszennyezők esetében 1–100 µg/L, vagy annál kisebb, néhány ng/L koncentráció esetén az alkalmazott detektor rendszerint valamilyen tömegspektrométer. A fejlettebb tömegspektrométerek már a molekulaszervezet analízisére is alkalmasak. Sok esetben, számos hétköznapi alkalmazásnál egy adott szerves mikroszennyező csoportba tartozó vegyületre a tömegspektrométernél egyszerűbb és olcsóbb detektorok is megfelelő eredményt nyújtanak. A kromatográfiás detektáláshoz használt műszerek közül több önállóan is alkalmas lehet az egyes komponensek mérésére, kromatográfot nem alkalmazó módszerek részeként.

Elsőként röviden a nem kromatográfiás módszereket tárgyaljuk, majd ezt követően sorra vesszük a szerves mikroszennyező anyagok kromatográfiás mérésének legfontosabb vonatkozásait. Végül az egyes tárgyalt módszerekhez legszorosabban kapcsolódó mintaelőkészítési és mintavételi módszereket körvonalazzuk.

8.1. A mérési módszerek minősítéséről általában

Ebben a részben röviden áttekintjük azokat a számszerű jellemzőket, amelyek az egyes módszerek megítéléséhez, összehasonlításához alapvetően fontosak lehetnek. Nem térünk ki külön a pontosság, precizitás fogalmára, sem a bizonytalanság számítására és a hibabecslésre sem, hiszen ezek a mérés technika és az analitika tantárgyakból már ismert fogalmak kell legyenek.

A minőségi analízis egy adott anyag jelenlétét mutatja ki a mintában, illetve egy ismeretlen anyag beazonosítására szolgál. Egy félkvantitatív módszer, becslést ad egy bizonyos anyag mennyiségére, segítségével kimutatható, hogy a koncentráció meghalad egy bizonyos értéket, vagy egy bizonyos tartományon belül van. Egy anyag tényleges mennyiségét vagy koncentrációját adott bizonytalansággal a kvantitatív módszerek segítségével lehet megbecsülni.

A legtöbb műszeres módszer (de elméleti szempontból a klasszikus mérési módszerek is) egy, a mérendő jellemzőtől (koncentrációtól, c) függő jelet (S) vagy eredményt szolgáltatnak. Jelként értelmezhetjük például egy kromatográfiás csúcs területét, egy oldat abszorbanciáját, vagy a bürettárolól leolvasott fogyást. Az érzékenység (k) lényegében a jel nagyságának a mért jellemző szerinti deriváltja. Lineáris összefüggés esetén egyszerűen a kalibrációs egyenes meredeksége:

$$k = \frac{dS}{dc} = \frac{\Delta S}{\Delta c} \epsilon$$

Azaz az érzékenységből számítható ki az a legkisebb koncentrációkülönbség (Δc), amelyet a módszer még egymástól különböző jelként mutat.

Specifikus az a mérés, ahol a mért jel csak a mérendő jellemzőtől függ (nincsenek zavaró hatások, ideális eset). Valójában specifikus mérés nem létezik. A szelektivitással jellemezzük a mérés zavaró hatásaitól való mentességét. A szelektivitási tényező ($K_{M,Z}$) egy adott mérendő komponensre és zavaró hatásra [3]:

$$S = S_M + S_Z = k_M \cdot c_M + k_Z \cdot c_Z$$

$$K_{M,Z} = \frac{k_Z}{k_M}$$

ahol S a mért jel, S_M a mérendő anyag által szolgáltatott jel nagysága, S_Z a zavaró hatás miatt felépő jel nagysága, k_M és k_Z a módszer érzékenysége a mérendő jellemző, illetve a zavaró anyag koncentrációjára (c_M és c_Z a mérendő, illetve a zavaró anyag koncentrációja). A jó módszerek azok, amelyeknél a jelet más anyagok nem befolyásolják, illetve az érzékenysége nem függ a környezeti feltételektől.

A legkisebb megbízhatóan kimutatható koncentrációkat három értékkel szokás jellemezni, a vakhatárértékkel, a kimutatási határral és a meghatározási határral. A vakhatárérték (Limit of Blank, **LoB**) az a látszólagos koncentrációja a mérendő anyagnak, amelyet akkor kapunk eredményül, amikor a mérendő anyagot nem tartalmazó (vak) mintát vizsgáljuk az adott módszerrel. A vakhatárérték kiszámítható a vakminták megismételt méréseire kapott eredmények statisztikai értékelésével:

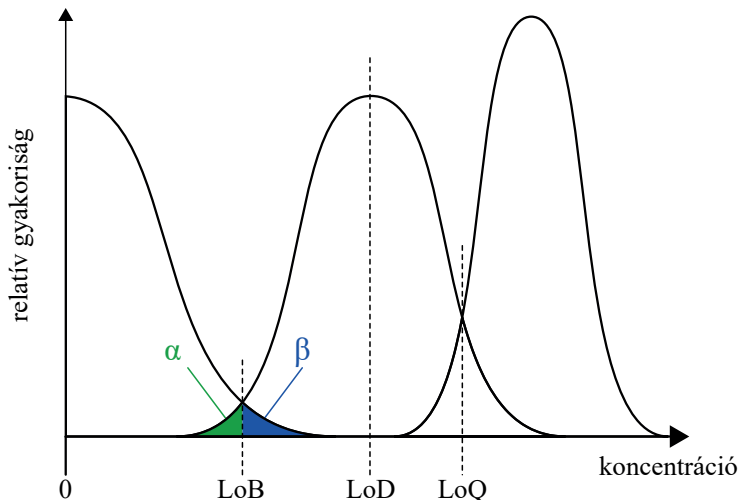
$$\text{LoB} = m_{\text{vak}} + 1,645 \cdot s_{\text{vak}}$$

ahol m_{vak} a mérések várható értéke (átlaga), s_{vak} pedig a szórása. Az 1,645 szorzó normál eloszlás feltételezésekor a 95%-os valószínűségnek felel meg. Ennek megfelelően a hamis pozitív (nullától különböző) eredmény valószínűsége az elsőfajú hiba valószínűségének felel meg, a 8.3. ábrán α . Fordítva, annak valószínűsége, hogy az alacsony koncentrációjú minta hamis nulla (vagy kisebb) értéket eredményez, a másodfajú hiba valószínűségének felel meg. A 8.3. ábrán ezt a β terület mutatja.

A kimutatási (detektálási) határ (*Limit of Detection* – **LoD**) az a koncentrációja a mérendő anyagnak, amely már elfogadható megbízhatósággal megkülönböztethető a vakhatárértéktől, a mérendő anyagot nem tartalmazó mintára kapott jeltől. Az LoD meghatározására az egyik lehetőség, hogy a vakmintákra mérünk ismételt értékeket, majd az így kapott **LoB**-értéket növeljük meg a (normál eloszlást feltételezve) a kétszeres, vagy még több szórásnak megfelelő koncentrációval. Ennek a módszernek a hátránya, hogy csak az **LoB**-értéket növeltük meg a biztonság javára, de arról nincs bizonyítékünk, hogy ez az alacsony koncentrációja a mérendő anyagnak nem szolgálthat-e az **LoB**-tól már nem megkülönböztethető jelet. A másik, megbízhatóbb, tapasztalati eljárás az LoD meghatározására, hogy több, a mérendő anyagot ismert, alacsony koncentrációkban tartalmazó minta **LoB**-tól való megkülönböztethetőségét vizsgálják ismételt mérésekkel. Ennek alapján az LoD megadása:

$$\text{LoD} = \text{LoB} + 1,645 \cdot s_{\text{mk}}$$

ahol s_{mk} a mérendő anyagot az LoD-nak megfelelő, kis koncentrációban tartalmazó minta eredményeinek szórása (ismét a 95%-os valószínűségnek megfelelően, normális eloszlást feltételezve). Ilyen módon, ha az LoD-nak megfelelő koncentrációjú mintákat mérünk, akkor elméletben ezeknek csak 5%-a lesz az **LoB**-nál alacsonyabb.



8.3. ábra

LoB, LoD és LoQ értelmezése valószínűségszámítás segítségével [4]

A meghatározási határ (*Limit of Quantitation – LoQ*) az a legkisebb koncentráció, ahol a mérendő anyagnak már nemcsak jelenléte mutatható ki megbízhatóan, hanem mennyisége is előre meghatározott, előírt biztonsággal meghatározható. Amennyiben ennek a feltételnek már az *LoD* koncentráció is eleget tesz, akkor $LoQ = LoD$, egyébként az *LoQ*-koncentráció nagyobb, mint az *LoD*.

A mindennapi gyakorlat szempontjából fontos jellemző még a lineáris tartomány alsó (*Lower Limit of Linearity – LLoL*) és felső (*Upper Limit of Linearity – ULoL*) határát megadó koncentráció. Azt a legnagyobb koncentrációt, amely még elfogadható bizonytalansággal meghatározható, felső meghatározási határnak (*Upper Limit of Quantitation – ULoQ*) szokás nevezni. A műszeres mérési módszereket felülről rendszerint az érzékenyég leromlása korlátozza.

Természetesen az *LoB*, *LoD*, *LoQ* és egyéb, az analitikai módszerek teljesítőképességét megadó paraméterek meghatározhatók az egyszerű normál eloszlás feltételezésén túl többféle, bonyolultabb statisztikai módszerrel is. Különböző szakmai szervezetek az analitikai módszerek teljesítményét megadó paramétereket kismértékben eltérően definiálják [5]. Ezek közül néhány példa, ahol az egyes definíciókat érdemes nyomon követni [6]:

- **ICH** (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use),
- **USFDA** (United States Food and Drug Administration),
- **AOAC** (Association of Analytical Communities),
- **USP** (United States Pharmacopoeia),
- **IUPAC** (International Union of Pure and Applied Chemistry).

8.2. Spektroszkópiai módszerek

A legtöbb, szerves mikroszennyező anyagok kimutatására és mérésére alkalmas módszert a leghatékonyabban kromatográfiás elválasztást követően lehet alkalmazni. Ennek oka, hogy ezek a vegyületek, egy-egy csoportjukon belül, alapvető építőelemeikben, funkciós csoportjaikban és kötéseikben nem sokban különböznek egymástól, így egymás melletti kimutatásuk ugyanabból

a mintából rendszerint problémás. Ezért a különféle elveken alapuló eszközök többsége kromatográfias detektorként is alkalmazható, illetve a kromatográfia lehet mintaelőkészítő művelet ezen alkalmazásokhoz.

A spektroszkópai eszközök kromatográfias detektorként vagy önállóan is alkalmasak különböző szerves komponensek kimutatására. Számos szerves vegyület rendelkezik a méréshez megfelelő abszorbanciamaximummal vagy -maximumokkal az ultraibolya (UV- 100–400 nm) tartományban. A legtöbb esetben azonban a környezeti mintákban jelen lévő többféle szerves anyag nem teszi lehetővé egy adott komponens mérését, vagy csak nagyon magas, a mikroszennyezőkre nem jellemző koncentrációkban. Egyes szerves vegyületek megfelelő előkészítés után, de szintén inkább csak 0,1–10 mg/L tartományban a látható fény tartományban (VIS, 380–740 nm) is vizsgálhatók. Az infravörös tartományban egyes funkciós csoportok és kötések minőségi analizisére is van mód. Jóval bonyolultabb spektroszkópai módszerek (röntgen, fluoreszcens) is alkalmasak bizonyos szerves komponensek vizsgálatára.

Az atom- és molekulaszpektroszkópia leggyakoribb, kromatográfias elválasztás nélkül is alkalmazható módszereinek főbb csoportjai:

- UV-VIS spektrofotometria (vegyértékelektronok rezgései),
- IR spektroszkópia (molekularezgések),
- Raman spektroszkópia,
- lumineszcencia spektroszkópia:
 - fluoreszcens spektroszkópia,
 - foszforeszcens spektroszkópia,
 - röntgen fluoreszcens spektroszkópia (*X-Ray Fluorescence Spectroscopy* – XRF),
- mikrohullámú spektroszkópia,
- rádió spektroszkópia:
 - elektron spin rezonancia (*Electron Spin Resonance* – ESR),
 - elektron paramágneses rezonancia (*Electron Paramagnetic Resonance* – EPR),
 - mágneses magrezonancia (*Nuclear Magnetic Resonance* – NMR).

A molekulaszpektroszkópia a szerves mikroszennyező anyagok analizisére elterjedt eljárás. Az atomspektroszkópia az egyes, meghatározott elektronszerkezettel rendelkező atomok által elnyelt és kibocsátott elektromágneses hullámokat vizsgálja, ezért elsősorban az elemvizelésben használatos, és rendszerint csak az egyéb (nehézfém, foszfor stb.) atomokat is tartalmazó szerves vegyületek vizsgálatánál vehetők számításba. A molekulaszpektroszkópia ezzel szemben a molekulák elektronjainak és atomjainak, atomcsoportjainak elektromágneses hullámokkal való kölcsönhatásán alapul. Mivel a molekulákban az atomi állapothoz képest csak a vegyértékelektronok vannak más kvantumállapotokban, ezért a belső elektronehéjak állapotain keresztül a molekulákban lévő atomok is vizsgálhatók atomspektroszkópai módszerekkel.

8.2.1. UV-spektrofotometria

Az ultraibolya-látható fény (*Ultraviolet-Visible Light* – UV-VIS) fotometria alapelveit egyes hallgatók már a középfokú szakmai oktatásban is elsajátítják, illetve a felsőoktatásban már az első szemeszter kémia tárgyaiban szerepel mind elméleti, mind gyakorlati formában. Ezért alapelveit és alapfogalmait itt nem tárgyaljuk részletesen. Az UV-VIS fotométerek esetében a mintán áthaladó, adott hullámhosszú fénysugár intenzitásának gyengüléséből, amelyet a mért abszorbancia jellemez, lehet következtetni az adott hullámhosszú fényt elnyelő komponens mennyiségére.

A fotometriás mérések mérési tartománya rendszerint rugalmasan növelhető vagy csökkenthető a minta hígítása mellett a hullámhossz és a minta vastagságának változtatásával is.

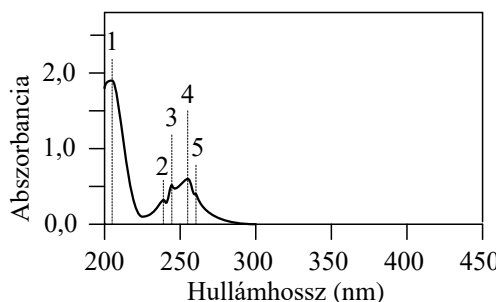
Az abszorbanciát a hullámhossz függvényében mérve a minta abszorpciós spektrumának mérésére nyílik mód, amely bizonyos korlátok között minőségi analízist is lehetővé tesz. Számos, szerves mikroszennyezőkre is jellemző kromoforcsoport van, amely az UV-tartományban jól látható csúcsot produkál (8.1. táblázat).

8.1. táblázat

Kromoforcsoportok UV-tartományban [7]

Átmenet	Hullámhossztartomány	Példák
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<200 nm	C–C, C–H
$n \rightarrow \sigma^*$	160–260 nm	H ₂ O, CH ₃ OH, CHCl ₃
$\pi \rightarrow \pi^*$	200–500 nm	C=C, C=O, C=N
$n \rightarrow \pi^*$	250–600 nm	C=O, C=N, N=N, N=O

Számos szerves vegyület és mikroszennyező anyag UV-VIS-spektruma rendelkezésre áll különböző kémiai adatbázisokban [7] [8] [9] [10]. Ezek azonban többnyire nem egységesek, jelentős különbségek lehetnek abban, hogy az adott adatokat milyen oldószerben, milyen koncentráció- és hullámhossztartományban határozták meg.



8.4. ábra

Benzol UV-spektrumának abszorpciós csúcsai [11]

8.2. táblázat

Benzol UV-spektrumának abszorpciós csúcsai [11]

Csúcs sorszama	Hullámhossz (nm)	Abszorbancia
1.	204,9	1,891
2.	244,1	0,323
3.	249,9	0,475
4.	255,6	0,527
5.	260,9	0,383

A 8.4. ábrán látható spektrum például benzolra, 7,519 mmol/L-es koncentrációban, 5 v/v%-os acetonitril-víz elegyben, 10 mm-es küvettában felvett spektrum. Ha ez alapján egy mérési tartományt szeretnénk becsülni a benzolra 204,9 nm-es hullámhosszon úgy, hogy a fotometriás mérés eredménye 0,2–0,8 abszorbanciaértékek közé essen (fotométerek esetében általában ez egy jól alkalmazható tartomány), akkor a kalibrációt 60–250 mg/L-es tartományban kellene elvégezni. Ebből és a többi

anyag adataiból is megállapítható, hogy az UV-tartományban a fotometriás módszerek mérési tartománya jellemzően nem kezdődik 1 mg/L alatt. Azonban a fotometriás mérés jól automatizálható, olcsón megoldható, miniatürizálható és UV-tartományban rendszerint nem igényli reagensek hozzáadását. Ezért számos anyag, főleg szerves oldószerek mérésére dolgoztak ki módszereket és gyártanak online analizátorokat, amelyek már 10 µg/L tartományban is alkalmazhatók [12]. A fotometriás mérést egyéb mintavételi és minta-előkészítési eljárásokkal kombinálva még kisebb koncentrációk is mérhetők, például Wittkamp és Hawthorn szilárd fázisú mikroextrakcióval (*Solid Phase Micro Extraction – SPME*) benzolra 97 µg/kg, naftalinra 0,4 µg/kg meghatározási határt ért el [13].

A spektrumok értékelésére és feldolgozására számos matematikai módszer is rendelkezésre áll, amelyek mind a minőségi, mind a mennyiségi analízist segítik. Ezekre néhány példa:

- lineáris diszkriminanciaanalízis (*Linear Discriminant Analysis – LDA*) [14];
- tartó- (vagy támasz-) vektorgép osztályozás (*Support Vector Machines Classification, SVMC*) [14];
- főkomponens analízis (*Principal Component Analysis, PCA*) [15];
- hierarchikus klaszteranalízis (*Hierarchical Cluster Analysis, HCA*) [15];
- többváltozós görbefeletbontás és váltakozó legkisebb négyzetek módszere (*Multivariate Curve Resolution – Alternating Least Square, MCR-ALS*) [16];
- parciális legkisebb négyzetek módszere (*Partial Least Square Regression, PLSR*);
- többszörös lineáris regresszió (*Multiple Linear Regression, MLR*).

8.2.2. VIS-spektrofotometria

A látható hullámhossztartományban történő fotometriás mérés megköveteli, hogy azokat a vizsgálandó anyagokat, amelyek nem abszorbeálnak fotonokat a látható fény hullámhosszán, valamilyen színes vegyület létrehozásával mérhetővé tegyünk. Ez a szerves mikroszennyezők többségének esetében nagyon alacsony koncentrációknál rendszerint nem járható út. Azonban éppen úgy, mint az UV-tartomány esetében, a fotométerek előnyeinek kihasználására kifejlesztettek, és várhatóan a jövőben is fejleszteni fognak, módszereket, amelyek egyes komponensek mérésére alkalmasak. A klasszikus, reagenssel történő színképzést alkalmazó módszerekkel mérhető paraméterekre és a mérhető koncentrációkra példa:

- összes trihalometán (Hach method 10132, 10–600 ppb);
- anionos detergens (kristályibolya módszer, 2–275 µg/L);
- fenolok (4-Amino-antipirin módszer, 2–200 µg/L);
- hidrazin (p-dimetil-amino-benzaldehid módszer, 4–600 µg/L).

Látható, hogy az anyagok egy része nem egy adott vegyület, hanem valamilyen összegző paraméter, adott tulajdonsággal bíró vegyületcsoport, például a fenolok esetében az orto- és meta-szubsztituált fenolok [17].

A UV-VIS-fotométert használó módszerek között érdemes külön megemlíteni az immunpróbán (immunoassay) alapuló módszereket. Ezek többsége általában kvalitatív vagy félkvantitatív módszer, alkalmazásuk igen széles körű. Alkalmasak például peszticidek vizsgálatára:

- alachlor (0,1–0,5 ppb);
- atrazin (0,5–3 ppb).

Alkalmasak más szerves vegyületcsoportok vizsgálatára is:

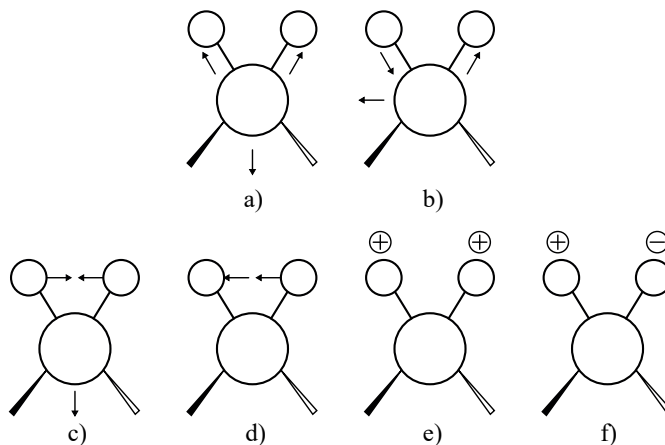
- összes alifás szénhidrogén (20–50 ppm, *Total Petroleum Hydrocarbons – TPH*);
- poliklórozott bifénilek (1–5 ppb, *Polychlorinated Biphenyls – PCB*).

Az immunpróba a műanyag küvetták falára előre felvitt, a mérendő komponensre szelektív antitesteket alkalmaz. Ezek képesek megkötni és kivonni a mintamátrixból a mérendő komponens. Az előkészített mintát és egy reagenst (amely enzimkonjugált molekulákat tartalmaz) a küvettába helyezik. Az inkubációs idő alatt az enzimkonjugált molekulák és a mérendő komponens verseng az antitesteken található kötőhelyekért. A több mérendő komponens tartalmazó minták esetén a mérendő komponens több kötőhelyet foglal el, ezért kevesebb hely marad az enzimkonjugált molekulák számára, így a minta folyadékfázisában több enzimkonjugált molekula marad.

Az inkubáció után a mintát a szabad enzimkonjugátummal együtt kimossák, majd egy színképző reagenst adnak hozzá. A konjugátumban található enzim katalizálja a színes vegyület képződését. A szín annál intenzívebb, minél több enzimkonjugátum maradt a mintában, azaz az abszorbancia csökkenése összefüggésben lesz az eredeti mintában jelen levő mérendő komponens mennyiségével. Az abszorbanciát a kalibráció során kapott értékekkel összehasonlítva a mérendő komponens mennyisége meghatározható [17].

8.2.3. IR-fotometria

Az infravörös tartományon belül többféle műszeres technika létezik, amelyek különböző elveken alapulnak. A módszer alapelve alapjaiban megegyezik az UV-VIS-fotometriával, azonban a fény elnyelésért elsősorban nem a vegyértékelektronok állapotai közti átmenetek felelősek, hanem a molekulák és funkciócsoportjaik különböző rezgései és forgásai. Néhány ilyen jellemző átmenetet mutat be a 8.5. ábra.



8.5. ábra

AX_2 típusú funkciócsoportok általános rezgései egy nagyobb molekulán belül. a) szimmetrikus nyúlás, b) aszimmetrikus nyúlás, c) síkbeli aszimmetrikus ollózás d) síkbeli aszimmetrikus elhajlás e) síkon kívüli szimmetrikus elhajlás f) síkon kívüli aszimmetrikus elhajlás (Salamon Endre)

Az ultrabiolya, a látható fény és az infravörös tartományt megadó hullámhosszokra a szakirodalomban kismértékben eltérő meghatározások találhatók, ráadásul az infravörös spektroszkópiában (*Infrared Spectroscopy* – IR) a hullámhossz helyett gyakran a hullámszámot adják meg cm^{-1} -ben (8.3. táblázat).

8.3. táblázat

Jellemző hullámhossztartományok a szakirodalomban (Salamon Endre)

Elnevezés	Hullámhossz	Forrás
UV	190–350 nm	[18]
	100–400 nm	[19]
Távoli UV (Far UV)	10–200 nm	[20]
Közeli UV (Near UV)	200–380 nm	[20]
VIS	380–780 nm	[19] [20]
	400–700 nm	[21]
IR	750 nm – 1 mm	[22]
	760 nm – 1 mm	[19]
	780 nm – 1 mm	[20]
NIR	750–2500 nm	[22]
	800–2500 nm	[18, 23]
	700–3000 nm	[21]
	700–1400 nm	[24]
	780–3000 nm	[20, 24]
VNIR	700–1000 nm	[21]
SWNIR	600–1100 nm	[18]
MIR	2500 nm – 16 μm	[22]
	3–100 μm	[21]
	1400–3000 nm	[24]
	3000 nm – 50 μm	[24]
	2500 nm – 25 μm	[23]
FIR	0,1–1 mm	[22]
	3000 nm – 0,1 mm	[24]
	50 μm – 1 mm	[24]
	25–500 μm	[23]
Mikrohullám	1 mm – 1 m	[20]

Az infravörös tartományt három fő részre szokás osztani a vizsgálható jellemzők alapján:

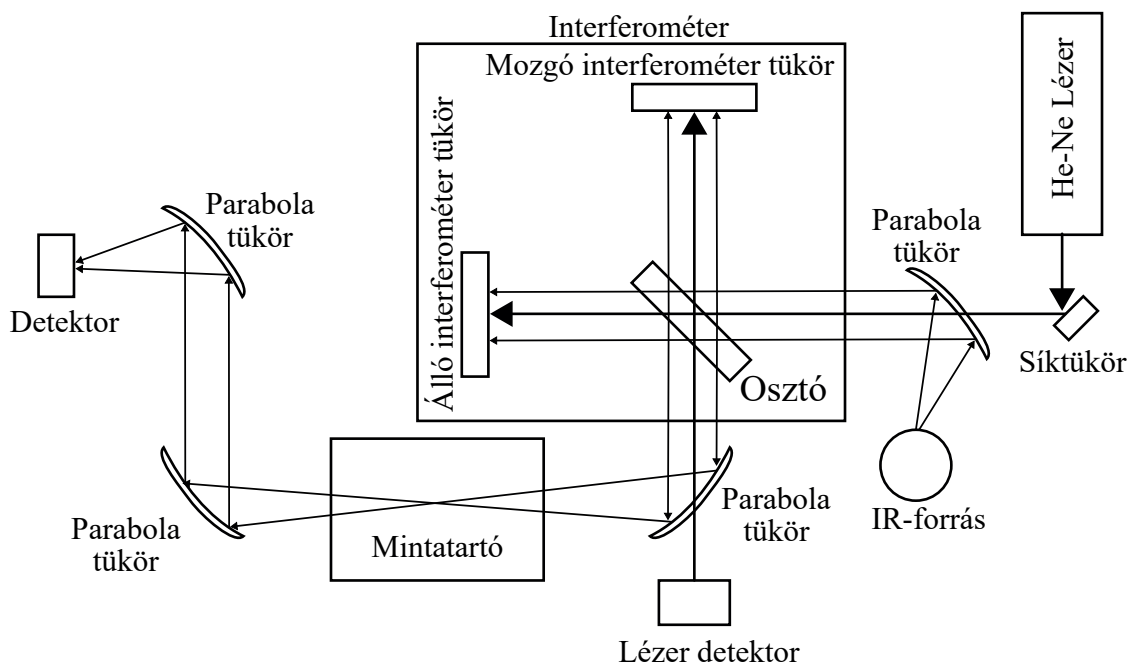
- közeli infravörös tartomány (*Near Infrared* – **NIR**), ezen belül még:
 - rövid hullámhosszú közeli (*Short Wavelength Near Infrared* – **SWNIR**);
 - látható és infraközeli (*Visible and Near Infrared* – **VNIR**);
- közép-infravörös (*Middle Infrared* – **MIR**);
- távoli infravörös (*Far Infrared* – **FIR**).

A molekularezgések közül a **NIR**-tartományban a felhangok és a kombinációs sávok jelennek meg, a **FIR**-tartományban a vegyérték- és deformációs rezgések. A még kisebb energiával gerjeszthető rezgések a mikrohullámú tartományban is vizsgálhatók.

A **MIR**-tartományon belül a vegyértékrezgések tartományában ($1500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$) a jellegzetes funkciós csoportok rezgései találhatók, az úgynevezett ujjlenyomat-tartományban ($1500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$) adott vegyületekre jellemző és egyedi rezgések vizsgálhatók. Az **UV-VIS**-fotometriához hasonlóan az abszorpciós spektrum használata jellemző, az emissziós technikák kevésbé elterjedtek. A transzmissziós módszer mellett a visszavert infravörös fény mérésén alapuló (reflexiós) módszerek is használatosak [23].

Az infravörös spektrofotométerek felépítése hasonló az **UV-VIS**-készülékéhez, fényforrásból, mintatartó küvetából, monokromátorból és detektorból áll. Egyes **UV-VIS**-készülékek képesek a **NIR**-tartomány rövidebb hullámhosszain (például $900\text{--}1100\text{ nm}$ -ig) is mérni. A valódi infravörös spektrofotométerekben a detektálás történhet úgynevezett diszperziós módon, az **UV-VIS**-hez hasonlóan a hullámhossz kiválasztására való monokromátor segítségével, de ez a kevésbé elterjedt megoldás. A gyakoribb megoldás a Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (Fourier

Transform Infrared Spectroscopy FTIR vagy FT-IR). Ezekben a széles spektrumot tartalmazó nyaláb halad át (vagy verődik vissza) a mintán, és a detektor a beeső infravörös fényből interferométer segítségével interferogrammot állít elő, amelyből Fourier-transzformáció segítségével a spektrum elkészíthető. Az FTIR-spektrofotométerek egy általános felépítését mutatja be a 8.6. ábra.



8.6. ábra

FTIR fotométer vázlat [20]

A valós fényforrások nem egyenletes intenzitással sugároznak az IR-tartomány hullámhosszain, ezért a műszerek a vizsgálandó tartományoknak megfelelően különböző fényforrásokat használnak. Az infravörös fényforrás rendszerint valamilyen izzásig hevített, széles hullámhossztartományban sugárzó anyag. A MIR-tartományban izzó kerámia vagy szilícium-karbid (Globar-izzó) használható. A modern kerámiák nagy előnye, hogy nem igényelnek külön hűtést. A hőálló kerámiákat (cérium, cirkónium, tórium, itrium-oxidok) tartalmazó Nernst-izzó 2000 cm^{-1} hullámszám alatt használható jól. A NIR-tartományban, ahol rendszerint az infravörös sugárzás intenzitása alacsonyabb, magas hőmérsékletű fényforrás szükséges. Ez megvalósítható infravörös fényt átengedő kvarcüvegéből készített halogén izzókkal (kvarc-tungsten-halogén izzók). A FIR-tartományban nagy nyomású higanygőzlámpák használhatók. Gáz- és diódalézerek is alkalmasak fényforrásnak, a gázlézerek spektruma keskenyebb, az állítható diódalézereké tágasabb.

Az infravörös detektorokból, ahogy más spektroszkópiában használt detektorokból is, számos típus áll rendelkezésre, amelyek többsége az adott gyártók saját fejlesztése, pontos specifikációik ezért részletesen nem ismertek. Általánosságban a detektorok két csoportra oszthatók, termikus és kvantumdetektorokra. A termikus detektorok az infravörös sugárzást elnyelő anyag hőmérséklet-változásából (például piroelektromos anyagok polarizációjának változása segítségével) állítanak elő jelet. A termikus detektorok általában olcsóbbak és robusztusabbak. A kvantumdetektorok általában p-n átmenettel rendelkező félvezetők, amelyekben az infravörös sugárzás képes elektronokat

juttatni a vezetési sávba, így adva mérhető elektromos jelet. Fotocellák és fotoelektron-sokszorozók inkább csak NIR-tartományban (1 nm, illetve 10 ezer cm^{-1} alatt) használhatók, mivel nagyobb energiájú fotonokat igényelnek.

Az IR-tartományban folyadék, szilárd, gáz-halmazállapotú minták is vizsgálhatók. Különös figyelmet kell fordítani arra, hogy a minta tulajdonságai ne változzanak meg, illetve az adott háttérkép felvételére. Transzmissziós módszereknél (ahol a fénysugár áthalad a mintán) gáz-minták általában előkészítés nélkül, közvetlenül is vizsgálhatók, de a túl sok vízgőzt tartalmazó mintákból a vízgőzt el kell távolítani. Folyékony halmazállapotú mintákat rendszerint szerves oldószeres közegben kell vizsgálni. A szerves oldószer kiválasztásánál figyelembe kell venni a mérendő komponens oldhatóságát és azt, hogy a szerves oldószer ne abszorbeáljon túlzottan a vizsgálandó hullámhosszokon. A víz abszorpciója erős és hőmérsékletfüggő az infravörös tartományban, ezért vizes oldatok rendszerint nem vizsgálhatók, bár léteznek módszerek és eszközök vizes minták elemzésére is. A legtöbb esetben a vízből szerves oldószerrel extrahálni szükséges a vizsgálandó komponenseket az IR-tartományban történő méréshez. Az IR különböző tartományaiban más és más kivetta használata lehet célszerű. Üveg- és ömlesztett kvarc-küveták vizet is be tudnak fogadni, míg az úgynevezett sóküveták (például KBr, LiF) rendszerint szerves oldószerrel használhatók. A szilárd mintákat rendszerint a sóküvetaként is használható anyagok egyikével összekeverve, pasztillává alakítva lehet vizsgálni.

A reflexiós módszerek közül a külső reflexiós (*Extrenal Reflectance Spectroscopy – ERS*), a gyengített teljes reflexiós (*Attenuated Total Reflectance – ATR*) és a diffúz reflexiós (*Diffuse Reflectance Spectroscopy – DRS*) megoldásokat érdemes kiemelni. Az ERS segítségével visszaverő felületen elhelyezett vékony filmek tulajdonságait szokás vizsgálni. Az ATR a teljes visszaverődés jelenségét használja fel. Segítségével a minta egy vékony külső rétegéről nyerhető információ. Előnye, hogy alig igényel minta-előkészítést, folyadék, szilárd és gáz mintákon is használható. A DRS legnépszerűbb alkalmazása a különböző durva felületek, por állagú anyagok vizsgálata. A reflexiós FTIR előnyösen alkalmazható a mikroszkópiában is (mikrospektroszkópia). A mikroműanyagoknak mint szilárd mintáknak a vizsgálatára is jól használható.

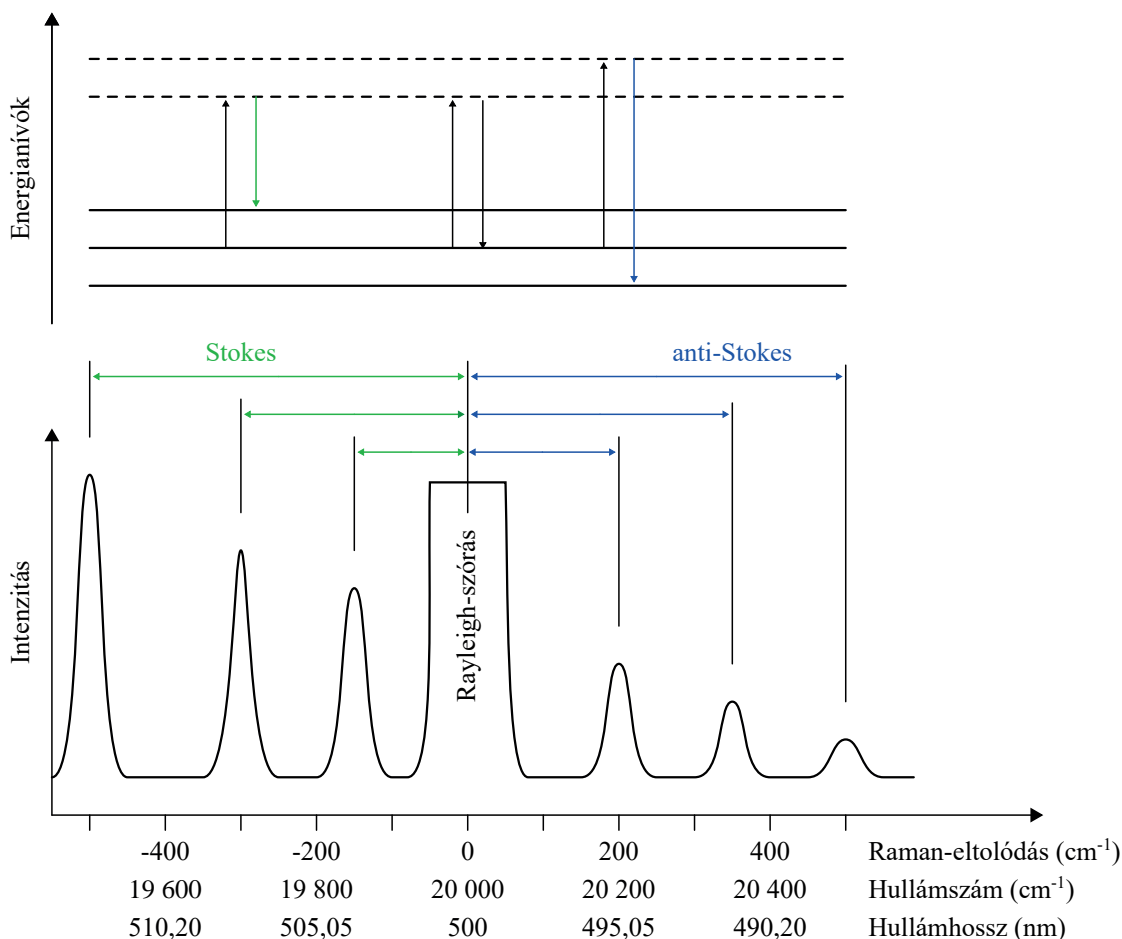
Az FTIR-technológia előnyösen kapcsolható össze más műszeres analitikai megoldásokkal is. Például detektorként alkalmazható a gázkromatográfiában (*Gas Chromatography – GC*), folyadékkromatográfiában (*Liquid Chromatography – LC*), kapilláris elektroforézisben (*Capillary Electrophoresis – CE*), vékonyréteg-kromatográfiában (*Thin-Layer Chromatography – TLC*) és szuperkritikus fluid kromatográfiában (*Supercritical Fluid Chromatography – SFC*) önállóan vagy más detektorokkal együtt. Jól kiegészíti a termogravimetriás (*Thermal Gravimetric Analysis – TGA*) módszereket is.

Az FTIR-módszert a szerves mikroszennyezők közvetlen mennyiségi meghatározása helyett inkább minőségi analízisre, a kémiai folyamatok jellemzésre használják. A víztisztítással kapcsolatban jól használható a különböző adszorbensek felületén megkötött vegyületek funkciócsoportjainak vizsgálatára. Vizsgálták például atrazin megkötődését aktív szénen [25], szerves oldószer megkötődését szilika aerogélen [26], paracetamol megkötődését aktív szén-szűrőkön [27].

A mennyiségi meghatározáshoz az egyes rezgésekhez tartozó csúcsok átlapolása miatt rendszerint az UV-spektrofotometriánál már tárgyalt matematikai módszerek szükségesek az értékeléshez (PCA, PLSR stb.). A mérhető koncentrációk általában magasabbak, mint az adott vegyületekre előírt határértékek, például Gowen és társai alaklórra és atrazinra 12,6 és 46,4 mg/L LoD-értéket mértek a NIR-tartományban [28]. Az MIR-tartományban megfelelő körülmények között 10–100 $\mu\text{g/L}$ LoD is elérhető polimerekre és szerves oldószerre [29].

8.2.4. Raman-spektroszkópia

A Raman-spektroszkópia a Raman-szórás jelenségén alapul, amelyet Chandrasekhara Raman indiai fizikus írt le először. A Raman-spektroszkópiával az infravörös spektroszkópiához hasonlóan a molekulák rezgései vizsgálhatók, így a két módszer egymás kiegészítésének tekinthető. A Raman-féle szórás a rugalmatlan, úgynevezett Stokes- és anti-Stokes-szóródás jelenségét foglalja magában. A Stokes-szóródás során a mintán történő áthaladáskor vagy visszaverődéskor egy molekularezgés gerjesztődik, a szórt foton energiát veszít, hullámhossza nő, a vörös irányában tolódik el, frekvenciája csökken. Az anti-Stokes-szórás során a foton energiát vesz fel, hullámhossza csökken, frekvenciája nő (8.7. ábra).



8.7. ábra

Raman-eltolódás (Salamon Endre)

A fotonoknak csak viszonylag kis töredékét érinti a Raman-féle szóródás, nagyobb részük a rugalmas Rayleigh-szóráson megy keresztül, ezért az ennek megfelelő hullámhosszú fotonokat a műszerrel ki kell szűrni ahhoz, hogy a Raman-szórás értékelhető legyen. A Raman-fotométerek fényforrásként szűk hullámhossz-tartományú lézereket használnak, amelyek Rayleigh-szórását sáv-

szűrővel ki lehet vágni a spektrumból. Korábban a Raman-spektroszkópiához egyszerű UV-fényforrásokat használtak, azonban ezek csak gyenge jelet eredményeztek. A Raman-spektroszkópia a lézerek megjelenésével vált elterjedtté. Az alkalmazott lézerek (He-Cd, Ar-ion, Kr-ion, He-Ne) többnyire a látható fény hullámhosszán (400–600 nm körül) működnek, de NIR-tartományban sugárzó lézerek is használhatók, például neodímium/ittrium-alumínium-gránát (*Yttrium Aluminium Garnet – YAG*). Ezek előnye, hogy a rövidebb hullámhosszú lézerekkel szemben kisebb valószínűséggel idéznek elő a mintában fluoreszcenciát vagy bomlást (fotodegradációt).

A Raman-spektrométerek az FTIR-hez hasonlóan interferométert használnak a spektrum előállításához, az eltolódás és az intenzitás méréséhez. Száloptikát használó berendezések kisebb hullámhosszfelbontással, olcsóbb kivitelben terepi vagy folyamatos monitoring műszerként is alkalmazhatók [30]. Mielőtt a modern diódasoros detektorok rendelkezésre álltak, a Raman-spektrométerek fotoelektron-sokszorozókat használtak detektorként. A diódasoros detektoroknak számos változata létezik, amelyek folyamatosan fejlődnek. Ezek közül, mint általánosan elterjedt típust, a töltéscsatolt eszközöket (*Charge Coupled Device – CCD*) érdemes megemlíteni [31]. Az FTIR-hez hasonlóan a Raman-spektroszkópia is felhasználható képalkotó eszközökben, mikroszkópokban.

A Raman-spektroszkópia kiválóan alkalmas különböző szerves komponensek mennyiségi és minőségi analizisére, annál is inkább, mivel a víz által szolgáltatott jel intenzitása a Raman-spektrumban gyenge, kevésbé zavaró [32]. Különböző változatai bizonyos szerves komponenseket 1 µg/L alatti koncentrációban is képesek mérni [33].

8.2.5. Lumineszcens spektroszkópia

Az emissziós spektroszkópiai módszerek közül a fotolumineszcens spektroszkópiát érdemes kiemelni mint a szerves vegyületek mennyiségi és minőségi analizisére alkalmas módszert. A lumineszcenciának két változatát különböztetik meg, a fluoreszcenciát és a foszforeszcenciát. A fluoreszcencia során a foton kibocsátása akkor történik, amikor egy gerjesztett vegyértékelektron a szinglet (vagy másképpen szingulett) gerjesztett állapotból tér vissza alapállapotba. A szinglet gerjesztett állapot azt jelenti, hogy az elektron spinje gerjesztett és alapállapotban is megegyezik, tehát a fluoreszcencia lényegében azonos spinű energiaszintek közti átmenetkor lép fel. A fluoreszcencia valószínűsége viszonylag nagy, és a gerjesztett állapot átlagos élettartama 10^{-5} – 10^{-8} s, emiatt a fluoreszcencia gyorsan megszűnik, ha a gerjesztő hatást megszüntetjük.

A gerjesztés során az elektronok alapállapotukkal ellentétes spinű állapotba is kerülhetnek (triplet vagy tripllett gerjesztett állapot). Amikor az átmenet során az elektron spinje változik, foszforeszcenciáról beszélünk. A gerjesztett állapot átlagos élettartama foszforeszcencia esetén 10^{-4} – 10^4 s, tehát jóval azután is fennmaradhat, hogy a gerjesztő hatást megszüntetjük.

A gerjesztett állapot természetesen megszűnhet anélkül is, hogy fotonkibocsátásra sor kerülne. Az ilyen relaxációra példa a rezgési relaxáció, amikor a molekula rezgési alapállapotába tér vissza, de elektronszerkezete változatlan, gerjesztett állapotú marad. A belső konverzió során az elektronszerkezet gerjesztett állapotból alapállapotba kerül, miközben a molekula rezgési állapota magasabb energiaszintre kerül, ami ugyancsak foton kibocsátása nélkül valósul meg. A külső konverzió során az energia a környezetnek, másik komponensnek adódik át.

A fluoreszcenciát és a foszforeszcenciát egyaránt az úgynevezett kvantumhatékonysággal jellemezzük, amely megmutatja, hogy a gerjesztett elektronok hányad része tér vissza alapállapotba fluoreszcencián vagy foszforeszcencián keresztül. A fluoreszcencia során a molekula több rezgési energianívón keresztül is visszatérhet az alapállapotba, ezért a kibocsátott fotonok hullámhossza

egy szélesebb tartományba esik. A fluoreszcencia során kibocsátott fotonok energiája rendszerint alacsonyabb, mint az abszorbeált fotonoké, ezért az abszorpciós spektrumhoz képest a fluoreszcens spektrum a magasabb hullámhosszak felé, jobbra tolódik. A foszforeszcencia során hasonló jelenség figyelhető meg, de kvantumhatékonysága jóval alacsonyabb. Rendszerint egy adott anyag esetében a fluoreszcencia és a foszforeszcencia intenzitása egymás rovására növelhető csak.

A lumineszcencia során az úgynevezett gerjesztési spektrumot és emissziós spektrumot vizsgáljuk. A gerjesztési spektrum úgy állítható elő, hogy a fénykibocsátás intenzitását egy adott hullámhosszon mérjük, miközben a gerjesztő fény hullámhossza változik. Megfelelő korrekciók mellett ez a gerjesztési spektrum közel megegyezik az abszorpciós spektrummal. Az emissziós spektrum felvétele során a gerjesztő fény hullámhossza állandó, a kibocsátott fény intenzitását vesszük fel a kibocsátott fény hullámhosszának függvényében. Egy adott molekula egyféle gerjesztési spektrummal rendelkezik, de a foszforeszcencia és a fluoreszcencia két külön emissziós spektrumot szolgáltat. A zavaró hatások miatt általában a módszer továbbfejlesztett változatát a háromdimenziós gerjesztési emissziós mátrix fluoreszcencia spektroszkópiát (*3D Excitation Emission Matrices – 3D-EEM*) használják, párhuzamos faktoranalízissel (*PARAllel FACtor analysis – PARAFAC*).

A lumineszcencia vizsgálatához használt fotométerek elve és felépítése közel megegyezik az UV-VIS-fotométerekével. A fő különbség, hogy a detektor nem a fényútban, a fényforrásminta által kijelölt egyenesen helyezkedik el, hanem azzal szöveget bezárva, hogy a minta által áteresztett sugárzás ne érje. A fluoreszcencia mérésére szolgáló műszert fluoriméternek nevezzük, ha szűrővel választjuk ki a gerjesztő és a mért hullámhosszt, és spektrofluoriméternek, ha a hullámhosszak monokromátorral állíthatók. A műszerben a gerjesztő fényforrás és a minta között, illetve a minta és a detektor között is monokromátor található. A küveták hasonlóak az UV-VIS-készülékekben használtakhoz. A fluoreszcenciát produkáló vegyületek előkészítés nélkül is vizsgálhatók, más komponenseket kémiai úton fluoreszkálóvá kell tenni.

A foszforeszcencia mérésének során meg kell oldani a fluoreszcencia kiszűrését. Ez rendszerint könnyen megoldható, hiszen a fluoreszcencia gyorsan lejtátszódik. Így elegendő megfelelő késleltetéssel mérni a gerjesztés után a kibocsátott fényt. Ezt a hagyományos fotométereknél megismert forgó szektortükrökkel lehet elérni, amelyek megakadályozzák, hogy a gerjesztés ideje alatt fény jusson a detektorba. Mivel a foszforeszcencia lassú folyamat, rendszerint meg kell akadályozni, hogy a relaxáció külső konverzióval menjen végbe. Ez elérhető a minta folyékony nitrogénnel történő fagyasztásával vagy szilárd szubsztrátokon történő immobilizációjával szobahőmérsékleten. A vizsgálandó mintát speciális felületekre is fel lehet vinni (szilikagél, alumínát, nátrium-acetát, szacharóz stb.) és beszárítani. Különösen előnyös a vékonyréteg-kromatográfiai eljárásokkal történő összekapcsolás.

Nemcsak a fényintenzitás, hanem annak csökkenésének mérése is módot ad mennyiségi meghatározásra. Ha a mérendő anyag csökkenti egy másik vegyület lumineszcenciáját, akkor a gyengülés mértékéből lehet következtetni a mérendő komponens mennyiségére. A lumineszcenciát létrehozó gerjesztés nem csak UV- vagy látható fényvel, fotonokkal (fotolumineszcencia) érhető el, hanem kémiai reakcióval (kemilumineszcencia), biokémiai reakcióval (biolumineszcencia) vagy radioaktív bomlással (radiolumineszcencia).

A legtöbb szerves ion vizsgálatára a lumineszcencia alkalmatlan, ezeket közvetlenül szerves komplexeikben lehet mérni. Az aromás gyűrűket tartalmazó szerves vegyületek rendszerint fluoreszkálnak, míg a heterociklusos vegyületek foszforeszkálnak. Így a módszer számos anyag kimutatására alkalmas, például fehérjék, aminosavak, vitaminok, gyógyszerhatóanyagok, peszticidek vizsgálatára. Összegző paraméterek, szerves vegyületcsoportok is vizsgálhatók a segítségével, például huminsavak, humin anyagok.

A fluoriméterekkel meghatározható koncentrációt a háttérben levő, egyéb szerves anyagok zavaró hatása erősen befolyásolja. A spektrofluoriméterek alkalmasak lehetnek akár tíz ppb alatti koncentrációk mérésére is [34].

8.3. Termoanalitikai módszerek

A leggyakrabban alkalmazott termoanalitikai módszerek a következőképpen csoportosíthatók:

- termogravimetria (*Thermogravimetry* – **TG** vagy *Thermogravimetry analysis* – **TGA**) és derivatív termogravimetria (*Derivative Thermogravimetry*, **DTG**);
- differenciális termoanalízis (*Differential Thermal Analysis*, **DTA**) és pásztázó kalorimetria (*Differential Scanning Calorimetry*, **DSC**);
- fejlődő gáz mérés (*Evolved Gas Detection*, **EGD**) és fejlődő gáz analízis (*Evolved Gas Analysis*, **EGA**).

Az egyszerű termogravimetria lényegében a tömeg mérése a hőmérséklet függvényében. Ahogy a minta hőmérséklete emelkedik, úgy az illékonyabb komponensek elillannak, a tömeg csökken. A hőmérséklet függvényében mért tömeget deriválva a derivált görbe csúcsaihoz tartozó hőmérsékletek az egyes anyagok reakcióit jellemzik. Így például a hőmérséklet mellett meghatározható a széntartalom, a mésztartalom vagy különböző hőmérsékleten illékony származékokra felbomló komponensek mennyisége a mintában.

A differenciális termoanalízis során a minta és egy inert anyag hőmérséklete közt fellépő különbséget mérjük, miközben mindkettőt ugyanannak a hőmérsékletprogramnak vetjük alá. Segítségével bármilyen szilárd minta vizsgálható, amelyben a hőmérséklet hatására valamilyen entalpiaváltozással járó folyamat (kristályszerkezet-változás, adszorpció, deszorpció, párolgás, oxidáció, redukció, égés, polimerizáció, dehidratáció stb.) végbemegy. A pásztázó kalorimetriának két alapvető változata van. A hőáram-**DSC** (heat-flux vagy heat flow) során a mintát és az inert referenciaanyagot egy azonos hőforrással fűtjük, és a hőmérséklet-különbséget mérjük, a **TGA**-hoz hasonlóan.

A teljesítménykompenzációs **DSC** (*power consumption vagy power compensation* – **DSC**) során a mintát és a referenciát azonos hőmérsékleten tartják, két külön fűtőáramkör segítségével, amelyek a keletkező hőmérséklet-különbségeket kiegyenlítik. A minta és a referencia hőmérséklete adott program szerint változik, és a hőmérséklet-különbség kiegyenlítéséhez szükséges teljesítményt mérjük [35]. A fejlődő gázok mérésére és analízisére számos analitikai eljárás használható, elsősorban a már ismertetett spektroszkópiai módszerek közül az **IR**- és Raman-spektroszkópia, illetve tömegspektrometria és gázkromatográfia.

A termoanalitikai módszerek folyadékminták mérésére közvetlenül nem alkalmasak, azonban adszorbensek, üledékek vizsgálatára jól alkalmazhatók. Alacsony kimutatási határ eléréséhez rendszerint a tömegmérés és a kalorimetria nem elégséges, de más műszerekkel a fejlődő gázok vizsgálatával kiegészítve jól alkalmazható. A **TGA** és a **DSC** a műanyagok és a mikroműanyagok minőségi és mennyiségi analízisére jól használható [36].

8.4. Elektrokémiai módszerek

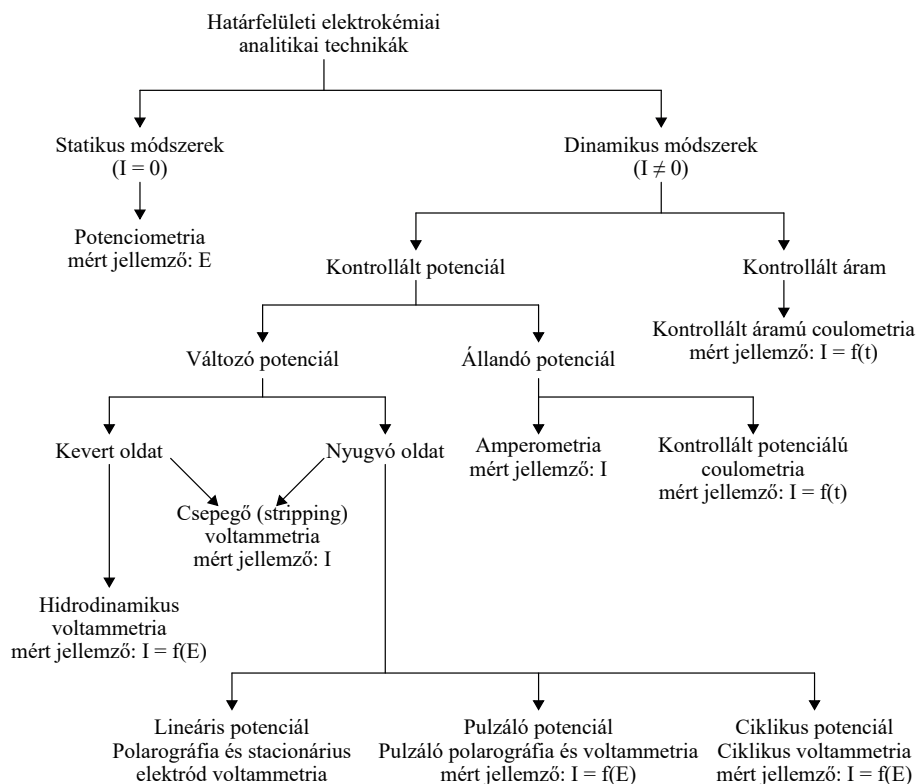
Az elektroanalitikai módszerek többsége elméletben alkalmas szerves mikroszennyező anyagok vizsgálatára is. Az **IUPAC** az egyes módszereket a 8.4. táblázat szerint csoportosítja [37].

8.4. táblázat

Elektroanalitikai módszerek csoportosítása [37]

Módszer	Mért mennyiség	Vezérelt mennyiség
Potenciometria (Potentiometry)	Elektródpotenciál, E	Áramerősség I = 0 vagy állandó
Amperometria (Amperometry)	Áramerősség, I	Elektródpotenciál, E
Voltametria (Voltammetry)	Áramerősség időben változó, I = f(t)	Elektródpotenciál időben változó, E = f(t)
Coulometria, vagy coulombmetria (közvetlen) (Direct Coulometry, Direct Coulombmetry)	Töltésmennyiség $Q = \int_{t_1}^{t_2} I(t) dt$	Elektródpotenciál E = állandó
Konduktometria (Conductometry)	Fajlagos elektromos vezetőképesség, κ	–
Impedimetria (Impedimetry)	Elektromos impedancia, Z	Elektródpotenciál E = szinuszos jel

Az elektrokémiai módszerek egy lehetséges, részletesebb csoportosítását mutatja be a 8.8. ábra. A határfelületi módszerekkel szemben, amelyeknél a kémiai reakciók az elektródokon játszódnak le, meg szokták különböztetni az „oldat tömegi” módszereket, amelyek az oldat belsejének, egy nagyobb térfogatának valamilyen elektromos tulajdonságát vizsgálják [35]. Ez utóbbi típusba a konduktometria tartozik. Az egyes módszerek részletes ismertetésére itt hely hiányában és a különböző megoldások sokfélesége miatt nem térünk ki.



8.8. ábra

Elektroanalitikai módszerek csoportosítása [37]

Az elektroanalitikai műszerek vizes oldatokkal is jól használhatók, részben közvetlen mérésre, részben kromatográfias vagy más előkészítés után. Karbonilcsoportot tartalmazó vegyületek mérésére már az 1980-as években is ismert volt 0,25 µg/L, fenolokra 1 µg/L kimutatási határral rendelkező módszer [38]. Modernebb alkalmazások, például csepegő higanyelektrod (*Dropping Mercury Electrode – DME*) vagy az adszorptív csepegő voltammetria (*Adsorptive Stripping Voltammetry – AdSV*) és változataik 1 µg/L – 1 ng/L koncentrációban is alkalmasnak bizonyultak peszticidek mérésére [39]. Ennek ellenére az elektrokémiai módszerekkel többnyire csak a szakirodalomban találkozhatunk, a szabványos eljárások inkább kromatográfias módszereket tartalmaznak.

8.5. Tömegspektrometria

A tömegspektrometria alapelve, hogy a mintában jelen lévő vagy a készülékhez épített ionforrásban létrehozott töltött részecskéket elektromos és mágneses terek segítségével felgyorsítjuk, szétválasztjuk. A töltött részecskékre ható Lorentz-erő a mágneses térerősség és a sebesség függvénye, emiatt a különböző nagyságú töltéssel és tömeggel rendelkező részecskék különböző hosszú utakat tesznek meg, eltérő ideig tartózkodnak az analizátorban, térben egymástól elválnak, külön detektálhatók. A berendezés erős vákuum alatt (<0,0001 Pa) üzemel, amelyet a hozzá tartozó elővákuum és turbomolekuláris pumpa állít elő.

A tömegspektrométer fő részei:

- ionforrás,
- iongyorsító;
- ionoptika,
- tömeganalizátor,
- detektor.

Az ionizációt megvalósító ionforrásoknak és a tömeganalizátoroknak számos típusa létezik. Detektorként rendszerint elektronsokszorozót alkalmaznak.

8.5.1. Ionizáció

Az ionizáció célja, hogy a tömegspektrométer számára analizálható, különböző tömeggel és töltéssel rendelkező ionokat, fragmenteket hozzon létre. Az ionizáció módszere szerint megkülönböztetünk:

- vákuumban működő:
 - elektronütköztetési ionizáció (*Electron Impact Ionization – EI*);
 - kémiai ionizáció (*Chemical Ionization – CI*);
- atmoszferikus nyomású:
 - elektropray ionizáció (*Electrospray Ionization – ESI*);
 - atmoszferikus nyomású kémiai ionizáció (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization – APCI*);
 - atmoszferikus nyomású fotoionizáció (*Atmospheric Pressure Photo Ionization – APPI*).
- egyéb technikák:
 - mátrixsegített lézeresztorpció és ionizáció (*Matrix Assited Laser Desorption Ionization – MALDI*);
 - szekunder ion tömegspektrometria (*Secunder Ion Mass Spactrometry – SIMS*);
 - gyors atomokkal történő bombázás (*Fast Atom Bombardment – FAB*).

Az egyéb ionizációs technikákat, amelyek folyadék vagy szilárd minták felszínének bombázásán alapulnak, és a hétköznapi kromatográfiás mérések során nem alkalmaznak, csak a kitekintés végett kerültek a listába. Velük kapcsolatban csak annyit érdemes megjegyezni, hogy napjainkban is számos továbbfejlesztett változatukat kísérletezik ki, és nem lehetetlen, hogy a jövőben a tömegspektrométerek a hagyományos kromatográfiás elválasztás nélkül is megfelelőek lesznek azokra az analitikai feladatokra, amelyeket most még kromatográfok segítségével oldunk meg.

Az elektronütköztetési ionizáció (*Electron Impact – EI*) esetén az elektronokat egy izzókatódból (fűtött fémszál) nyerjük. Az elektronok mennyiségét a fűtőáram, energiájukat a gyorsító feszültség mértékével szabályozhatjuk. A vizsgálandó komponens molekulái az elektronokkal ütközve töltött, úgynevezett töredékionokká (fragmentekké) alakulnak, amelyek a tömegspektrométerben detektálhatók.

A kémiai ionizáció (*Chemical Ionization – CI*) ionforrásának felépítése hasonló az elektronütköztetési ionforráséhoz. A különbség abban áll, hogy az ionizáció előtt úgynevezett reagengázt vezetünk az ionforrásba, és az elektronütközés hatására a reagengáz molekulái ionizálódnak. Az ionizált reagengáz-molekulák fogják ionizálni a vizsgálandó komponensek molekuláit. Ennél az eljárásnál kisebb a fragmentáció, mint az elektronütköztetési eljárásnál, de emiatt a tömegspektrumból nyerhető szerkezeti információ is kevesebb.

Az elektronspray ionizáció (*Electrospray Ionization – ESI*) a folyadékkromatográfiához alkalmazható legelterjedtebb technika. A nem illékony, ionos vagy poláros vizsgálandó anyagot poláros oldószerben oldják, majd aranybevonatú, nagyfeszültségű kapillárison keresztül juttatják az ionforrás belsejébe. A kapilláris bevonatára kapcsolt nagyfeszültség hatására a kapillárison átáramló eluens felszínén töltéstöbblet halmozódik fel, amelynek hatására az eluensből aeroszol képződik („cseppekre” szakad). Ezt a hatást egy inert porlasztógáz aerodinamikus porlasztó hatásával is segítik. A képződött töltött aeroszol egyre kisebb cseppekre szakad. Ahogy állandó felületi töltés mellett az aeroszol cseppjeinek egyre kisebb lesz a térfogata, egyre instabilabbá válnak. Ezt a hatást, azaz a vizsgálandó anyag ionjainak deszolvatációját szárítógáz bevezetésével (például nitrogénfüggönnyel) is fokozzák. A mintából képződött aeroszolt általában egy fűtött kapillárison vezetik el, így az ionforrásban lényegében csak az eluensben oldott – vizsgálandó – komponensek molekulái maradnak, amelyeket az ionforrásban található elektronágyú a már említett módon fragmentál és ionizál. A képződött ionok kónuszon és elektronikus lencsén keresztül jutnak be a vákuum alatt lévő analizátorba.

Az atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization – APCI*) hasonló kialakítású az *ESI*-hez, azonban itt a bevezető fémkapillárison nincs feszültség, csak a porlasztás hozza létre a cseppeket, így a cseppképzés és az ionizáció egymástól függetlenné válik. Az ionizáció egy külön koronakisülés hatására történik, ahol először az oldószer-molekulák ionizálódnak, majd ezek lépnek reakcióba a vizsgálandó komponensek molekuláival. A módszer a kisebb molekulatömegű, poláros molekulájú anyagok vizsgálatára alkalmas.

Az atmoszférikus nyomású fotoionizáció (*Atmospheric Pressure Photoionization – APPI*) felépítése is az *ESI*-hez hasonló. A vizsgálandó komponensekhez az ionizáció során az UV-tartományban jelentős fényelnyeléssel rendelkező oldószert, segédanyagot kevernek. Az oldatot porlasztás közben UV-fénnyel besugározva a segédanyag molekulái ionizálódnak, és a vizsgálandó komponenseket is ionizálják. Elsősorban kis molekulatömegű, apoláris anyagok vizsgálatára alkalmas.

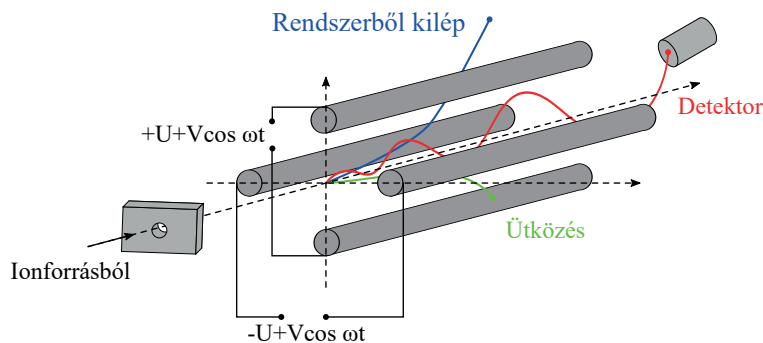
8.5.2. Tömeganalizátorok

A tömeganalizátorok főbb típusai, működési elvük szerint a következők, a teljesség igénye nélkül [40]:

- kvadrupól tömeganalizátor (*Quadruple – Q*);
- ioncsapda tömeganalizátor (*Ion Trap – IT*);
- repülési idő tömeganalizátor (*Time of Flight – TOF*);
- Fourier transzformációs ion-ciklotron rezonancia tömeganalizátor (*Fourier Transform Ion-Cyclotron Resonance – FT-ICR*);
- orbitális csapda tömeganalizátor (*Orbitrap – OT*);
- mágneses szektor tömeganalizátor (*Magnetic Sector*);
- elektrosztatikus szektor tömeganalizátor (*Electrostatic Sector*).

A tömeganalizátor előtt, az ionizáció után általában szükséges egy úgynevezett ionoptika, amely biztosítja, hogy az ionok azonos kinetikus energiával, egy nyalábban jussanak az analizátorba. Az ionoptika lehet egyszeres fókuszálású (vagy csak elektromos, vagy csak mágneses tér téríti el az ionokat) vagy kétszeres fókuszálású (elektromos és mágneses tér is eltéríti az ionokat).

A kvadrupól tömeganalizátorok lehetnek egyszeres kvadrupól és tripla kvadrupól (QQQ vagy MS/MS) típusúak is. Az egyszeres kvadrupól tömeganalizátor (8.9. ábra) négy párhuzamosan elhelyezkedő elektródból (fémrúdból) áll. Az egymással átellenben levő rudak feszültsége megegyezik, az egymás mellettieké pedig ellentétes előjelű. A hossz tengellyel párhuzamosan belépő ionok az elektromágneses tér hatására spirál alakú pályára állnak. A pálya alakja az ionok tömeg/töltés (m/z) arányától függ, így elérhető, hogy csak adott m/z értékkel rendelkező ionok jussanak a detektorba. A többi ion a rudaknak csapódva semlegesítődik, vagy kikerül a rendszerből. A kvadrupól tömeganalizátor így lényegében szűrőként viselkedik, és két alapvető mérési üzemmódban tud működni. Pásztázás (SCAN-) üzemmódban nagyon rövid, néhány tized másodperces időn belül az összes iont detektálja. A másik, az ionkövetéses (*Single Ion Monitoring, SIM*) üzemmódban pedig csak a kiválasztott m/z értékekkel rendelkező ionokat (a készülék teljesítményétől függően akár egyszerre negyven különbözőt is) méri. Egyes készülékek képesek a két üzemmód kombinációjára, azaz a SCAN-módban a kiválasztott anyaionokat külön is mérni.



8.9. ábra

Egyszeres kvadrupól tömeganalizátor (Salamon Endre)

A tripla kvadrupól tömeganalizátor (8.10. ábra) lényegében három, egymás után kapcsolt kvadrupól tömeganalizátorból áll. Az első segítségével kiválasztható egy (vagy több) anyaion (szülőion, parent ion), amely a második kvadrupólon való áthaladás során fragmentálódik. A második kvadrupólt

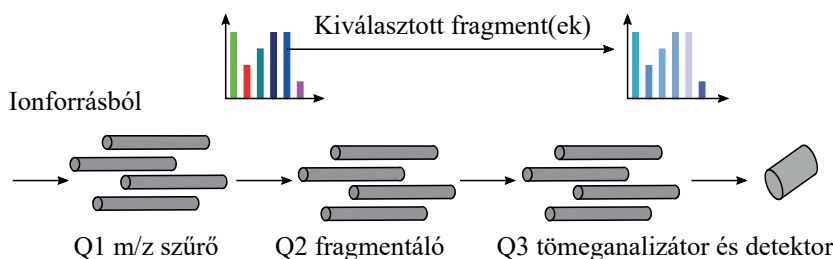
ütközési cellának is nevezik, amelyben az analízis számára felesleges ionok eliminálódnak. Végül a harmadik kvadrupól segítségével a második lépésben keletkezett ionok (leányion, product ion) tömegspektruma detektálható. A tripla kvadrupól tömegspektrométer működtethető egyszeres kvadrupólként is. A mennyiségi és a minőségi analízisre többféle módszer is rendelkezésre áll.

A leányion-analízis során egy kiválasztott szülőionból keletkező fragmenteket, leányionokat vizsgáljuk. Ezzel molekulaszerkezeti vizsgálatokat végezhetünk, illetve a legintenzívebb leányionok alapján mennyiségi analízis lehetséges.

Az anyaion-analízis során a harmadik kvadrupól csak adott fragmenteket vizsgál, így az első kvadrupól segítségével azonosítható minden olyan anyaion és komponens, amelyből az adott leányion keletkezik.

Kiválasztott ionfolyamatok követése során (*Multiple Reaction Monitoring – MRM*) mind az első, mind a harmadik kvadrupól meghatározott ionokat enged csak át, így vizsgálhatók az anyaion-leányion átmenetek, amelyek alapján a minőségi analízis sokkal megbízhatóbb, illetve a mennyiségi analízis is sokkal érzékenyebb lesz.

A fentiekből látható, hogy a tandem tömegspektrométerek által mért eredmények értékelése speciálisabb, haladó adatelemzési módszereket igényel, amelyeket itt külön nem tárgyalunk részletesen.



8.10. ábra

Tandem (tripla kvadrupól) tömeganalizátor (Salamon Endre)

A tömegspektrométerek teljesítményének legfontosabb jellemzője az érzékenység (a legkisebb kimutatható tömeg vagy részecskeszám, ami akár 10^{-21} mol [zeptomol] is lehet) mellett a felbontás és a mérési tartomány. A felbontás azt mutatja meg, hogy mekkora az a tömegkülönbség, amelyet a tömeganalizátor ki tud mutatni. Általában ezt úgy definiálják, hogy a két csúcsmaximum között a völgy mélysége legalább a csúcsmaximum 90%-ának megfelelő, míg az átfedés a két jel között legfeljebb 10%-os. A leggyakrabban, rutinvizsgálatokhoz alkalmazott tömegspektrométerek általában 0,1 atomi tömegegység-felbontásra képesek. A mérési tartomány alsó értéke rutinszerű alkalmazásokhoz általában 1 atomi tömegegység, felső határa 20–30 ezer atomi tömegegység körüli.

Amikor a tömegspektrométereket közvetlenül használjuk fel analízisre, a mintának gőz- vagy gázhalmazállapotban kell lennie, mert csak a szabadon mozgó ionok szétválasztása oldható meg egyszerűen. Ezért a mintabevitelnél a légköri nyomásról a mintát erős vákuumba kell bejuttatni. Ennek megoldására a legújabb deszorpciós módszerek (**MALDI**, **FAB**) kiválóan alkalmasak. Illékony, hőbomlásra nem hajlamos anyagok indirekt injektálással, 0,1–1 mg mintamennyiséggel juttathatók be. Ennél rendszerint egy szeptumon keresztül, vákuum alatti fűtött térbe kerül a minta, ahol elpárolog, és egy szűk résen át jut az ionizációs térbe. A kevésbé reprodukálható

direkt mintabevitel esetén a 0,001–0,1 mg mennyiségű, kevésbé illékony és hőbomlásra hajlamosabb mintát tégelyben, zsilipen keresztül juttatják az ionforrásba, ahol elpárolog.

8.6. Kromatográfiai módszerek

A szerves mikroszennyezők vizsgálatára a két leggyakrabban alkalmazott, alapvető módszer a gázkromatográfia és a folyadékkromatográfia, elsősorban tömegspektrométeres detektálással. Míg a gázkromatográfia főként csak az illékonyabb, nem poláros anyagok vizsgálatára alkalmas, addig a folyadékkromatográfiára ilyen kötöttségek nem vonatkoznak.

A kromatográfia lényegében egy elválasztási műveleten alapuló módszer. Az elnevezés magyarul „színírás”-t jelent, a görög χρωμα (kroma, kromosz) és γραφία (grafia, grafosz) írás szavakból. Az elnevezés Mihail Szemjonovics Cvet orosz tudóstól származik, aki először 1906-ban írta le a módszert különböző színű fotoszintetikus pigmentek, klorofillkomponensek elválasztására. A kromatográfiában napjainkban nagyon sokféle módszert alkalmaznak, amelyek a szakirodalomban többféle szempont és osztályozás szerint találhatók meg. Amennyiben az elválasztási művelet célja csak a tisztítás, minta-előkészítés (zavaró tényezők eltávolítása, vizsgálandó komponens dúsítása) további vizsgálat céljából, úgy preparatív kromatográfiáról beszélünk. Analitikai kromatográfia esetén az elválasztás segítségével a komponensek minőségi vagy mennyiségi analizisét végezzük.

A kromatográfiai elválasztás a fázishatárokon végbemenő folyamatokat használja ki. Ennek megfelelően az elválasztás technikai rendszerében egy állófázis (*stationary phase*) és egy mozgó-fázis (áramló fázis, *mobile phase*) van jelen. Az áramló fázisban jelen lévő komponensek többféle fizikai és kémia kölcsönhatás miatt eltérő erősséggel kötődnek az állófázishoz, ezért haladási sebességük anyagminőségüktől függően eltérő. Így az állófázishoz jobban kötődő, azon lassabban áthaladó komponensek elválasztódnak a gyorsabban, az áramló fázissal együtt mozgó komponensektől.

8.5. táblázat

Kromatográfiai eljárások csoportosítása az állófázis és az áramló fázis halmazállapota szerint [42]

Mozgófázis	Állófázis: Szilárd
Gáz (Gas chromatography, GC)	Gáz-szilárd kromatográfia (Gas-Solid Chromatography, GSC), töltetes oszlop (packed column), kapilláris oszlop (capillary column)
Folyadék (Liquid chromatography, LC)	Folyadék-szilárd kromatográfia (Liquid-Solid Chromatography, LSC), oszlopkromatográfia, papírkromatográfia (Paper Chromatography, PC), vékonyréteg-kromatográfia (Thin Layer Chromatography, TLC), ioncserés kromatográfia (Ion Exchange Chromatography, IEC), gélkromatográfia (Size Exclusion Chromatography, SEC, Gel Permeation Chromatography, GPC)
Mozgófázis	Állófázis: Folyadék
Gáz (Gas chromatography, GC)	Gáz-folyadék kromatográfia (Gas-Liquid Chromatography, GLC), töltetes oszlop (packed column), kapilláris (ürescső) oszlop
Folyadék (Liquid chromatography, LC)	Folyadék-folyadék kromatográfia (Liquid-Liquid Chromatography, LLC), oszlopkromatográfia, papírkromatográfia (PC), vékonyréteg-kromatográfia (TLC)

Az állófázis és az áramló fázis halmazállapota és anyagminősége szerint például a 8.5. táblázat szerint csoportosíthatjuk a kromatográfias eljárásokat [41] [42]. Egyik lista sem teljes, itt csak a fontosabb alapelveket soroljuk fel. A valóságban számos egyedi, speciális módszer is létezik.

A folyadék-gáz megkülönböztetés mellett létezik még szuperkritikus folyadék (fluidum) kromatográfia (*Supercritical Fluid Chromatography – SFC*) is. Bizonyos fókig az elektroforézisen alapuló elválasztás is idesorolható.

Az elválasztandó anyagok és az állófázis közti kölcsönhatás szerinti csoportosítás szerint:

- adszorpciós kromatográfia (Adsorption Chromatography);
- megoszlási kromatográfia (Partition Chromatography);
- ioncsere-kromatográfia (Ion-exchange Chromatography);
- méretkizárásos kromatográfia (Size-exclusion Chromatography);
- affinitáskromatográfia (*Affinity Chromatography – AC*).

Az állófázis geometriája szempontjából:

- sík vagy planáris kromatográfia (papír- és vékonyréteg-kromatográfia);
- oszlopkromatográfia (gázkromatográfia, szuperkritikus fluid kromatográfia és folyadék-kromatográfia).

Az áramló fázis mozgását előidéző hajtóerő szerint:

- kapilláris erő (planáris kromatográfias módszerek);
- kényszeráramlás nyomáskülönbség hatására;
- elektromos feszültség (gélelektroforézis, elektrokromatográfia, kapilláris elektroforézis, kapilláris gélelektroforézis, micelláris elektrokinetikus kromatográfia).

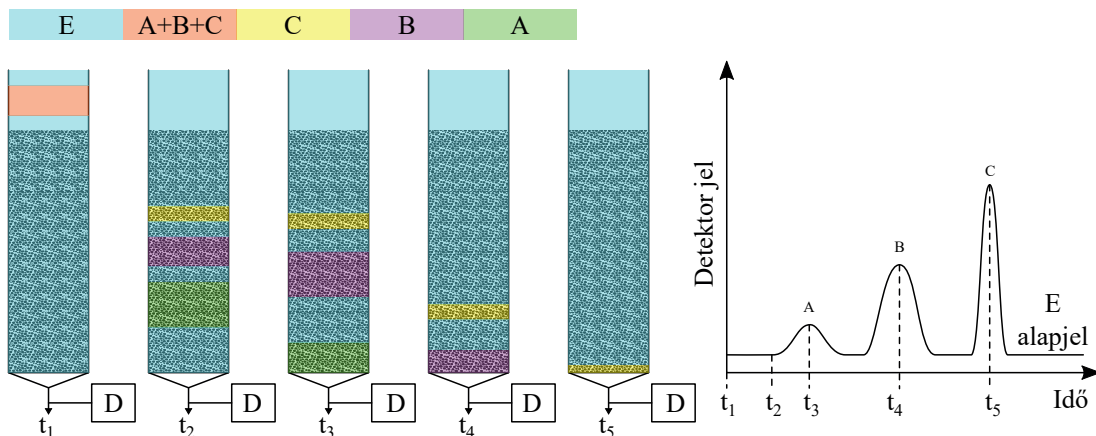
Az elválasztás technikai megvalósítása alapján háromféle fő eljárást különböztetünk meg:

- frontális kromatográfia;
- kiszorításos kromatográfia;
- elúciós kromatográfia.

Frontális kromatográfia esetén a vizsgálandó komponenseket tartalmazó elegyet folyamatosan vezetjük át az állófázison. Az állófázishoz történő kötődés erősségének sorrendje az egyes komponensekre nézve különböző. Ekkor az oszlopot elhagyó közegben először a leggyengébben kötődő anyag jelenik meg (ez tisztán ki is nyerhető), majd a kölcsönhatás erősségének függvényében a többi komponens keveréke.

Kiszorításos kromatográfia esetén először a vizsgálandó komponenseket tartalmazó elegyet vezetjük, visszük fel az adszorbeáló töltetre, rendszerint kis mennyiségben. Ezután egy, az adszorbeálásra erősen kötődő kiszorító anyagot áramoltatunk át az állófázison. Mivel ez utóbbi anyag erősebben kötődik az állófázishoz, a korábban megkötött komponenseket kiszorítja, azok ismét a mozgófázisba kerülnek, és az affinitás sorrendjében megjelennek a detektornál. A kiszorító anyag az eljárás végén telíti az állófázist, ezért a következő mérés előtt regenerálás szükséges. Az eljárás alkalmas az egyes komponensek dúsítására is, az elválasztás tökéletességétől függően. A frontális és a kiszorításos kromatográfiát mennyiségi analízisre ma már ritkán használják, inkább csak preparatív technikaként jöhetnek szóba.

Elúciós kromatográfia esetén az állófázison folyamatosan vivőanyagot (folyadékot vagy gázt), úgynevezett eluent áramoltatunk át. Ebbe az eluensáramba impulzusszerűen injektáljuk a vizsgálandó komponenseket tartalmazó mintát, rendszerint kis mennyiségben (0,1–1000 μL). Az egyes komponensek affinitásuk függvényében eltérő sebességgel haladnak át az állófázist tartalmazó oszlopon, és a detektornál egymástól térben és időben elkülönülve jelennek meg. A detektor jelét és a komponensek eloszlását a 8.11. ábra szemlélteti.



8.11. ábra

Elúciós kromatográfia elve (Salamon Endre)

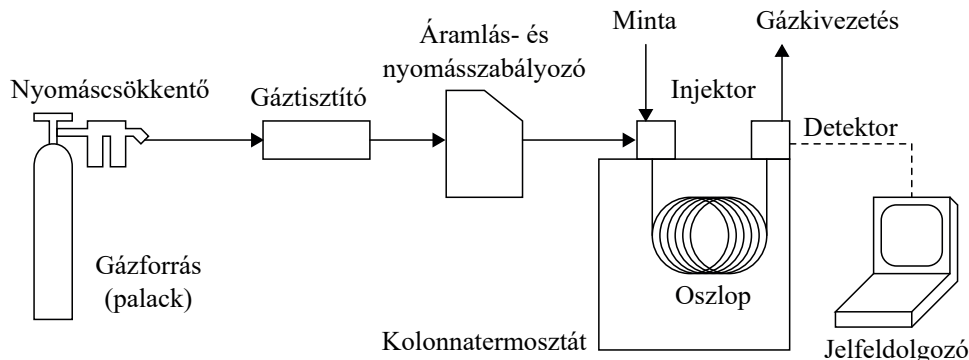
Az egyes komponensek koncentrációjának időbeli eloszlása általában normális eloszlással közelíthető, a maximális detektorjelhez tartozó időpontot (injektálástól eltelt időt) nevezzük az adott komponens retenciós idejének (késleltetési idő). A retenciós idő az adott komponens anyagi minőségére jellemző, tehát a retenciós idők alapján minőségi analízisre nyílik mód.

Mindhárom kromatográfiai technika esetén, főleg gázkromatográfiai módszereknél, az elválasztás hatásfoka növelhető a hőmérséklet állításával (hőmérsékletprogram). Ennek során kezdetben alacsonyabb hőmérsékleten a kevésbé adszorbeálódó komponensek fognak átjutni az oszlopon (lásd a 8.11. ábrán az A komponens csúcsát), majd a hőmérséklet növelésével a nagyobb affinitású komponensek deszorpciója meggyorsítható (például a C komponens esetében). A hőmérséklet növelésével így a vizsgálat időigénye (amely akár több mint 24 óra is lehet) csökkenthető. Az adszorpciót és így a retenciós időt a nyomás is befolyásolja. Elúciós kromatográfia esetében nincs szükség a kiszorítós módszerhez hasonló regenerálásra, azonban az állófázisok többségét mérés előtt hosszabb ideig kondicionálni szükséges.

8.6.1. Gázkromatográfia

A 8.12. ábrán látható a gázkromatográf általános felépítése. A gyártótól és az alkalmazott detektor, injektor típusától függően számos elrendezés létezik. A mozgófázis legtöbbször valamilyen inert gáz, amelynek átáramlását az oszlopon és a detektoron a gázforrás (legtöbbször gázpalack) nyomása biztosítja. A minta injektálása történhet kézzel vagy automatikus mintaadagoló készülék segítségével. Az oszlop a műszer termosztátszekrényében foglal helyet, a hőmérséklet időbeli változása programozható. Egy gázkromatográf termosztátjába típusától függően több különböző oszlop is elhelyezhető, és így egy műszer több injektálási ponttal és detektorral rendelkezhet.

Az oszlopot elhagyó vivőgáz a készülékhez tartozó detektorba kerül. A különböző detektorok jellemző paramétereinek beállítása és vezérlése általában az injektorral és a termosztátszekrényel közös vezérlőegységről történik. A modern készülékek szinte kivétel nélkül személyi számítógépről vezérelhetők, és a mért adatok kiértékelése is digitálisan történik.



8.12. ábra

Gázkromatográf felépítése (Salamon Endre)

A gázkromatográf injektorába történő mintabevitelhez rendszerint dugattyús mikrofecskendőket használunk mind kézi, mind gépi injektálásnál. A bevitt minta halmazállapota lehet gáz vagy folyadék. Az injektálással kapcsolatos legfontosabb követelmények:

- az injektálást gyorsan, pillanatszerűen kell végrehajtani,
- a csúcskiszélesedés mértékét minimálisra kell korlátozni,
- a minta mennyiségét minimalizálni kell,
- az egymást követő injektálások nem befolyásolhatják (diszkriminálhatják) a mintát.

A tökéletes injektálás (amely a valóságban nem lehetséges) pontszerűen juttatná be a vizsgálandó mintát a mozgófázisba. Néhány injektortípust és jellemzőiket mutatja be a 8.6. táblázat.

8.6. táblázat

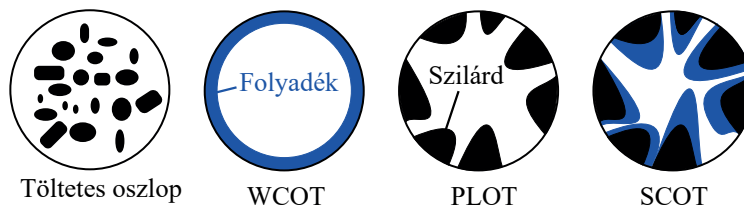
Főbb injektortípusok [42]

	Közvetlen (direct)	Osztott (split)	Osztatlan (splitless)	Közvetlenül oszlopra (on-column)
Oszlop	töltetes, nagy átmérőjű	kapilláris	kapilláris	kapilláris, töltetes, nagy átmérőjű
Injektor-hőmérséklet	magas/közepes	magas	magas	alacsony
Minta halmazállapot	gőz	gőz	kondenzált gőz	folyadék
Split („megosztás”) mód	nincs	folyamatos	adott idő után	nincs
Jellemző maximális mintamennyiség	1 μL	1–2 μL	< 2 μL retention gap nélkül 5 μL retention gap-el	
Mérési tartomány	1–1000 ppm	>100 ppm	0,01–100 ppm	0,01–100 ppm
Injektálás sebessége	gyors	gyors	1 μL alatt gyors, felette lassú	lassú
Kezdeti csúcskiszélesedés	gyors injektálásnál alig	gyors injektálásnál alig	jelentős, de hideg- és oldószer-csapdázásánál alig	jelentős, de alig lép fel oldószer-fókuszálásnál

A kolonnatermosztát szerepe az, hogy a benne lévő oszlop hőmérsékletét a megadott értéken tartsa, illetve az előírt hőmérsékletet program szerint változtassa, ezzel segítve az eltérő forráspontú és illékonyaságú komponensek elválasztását.

A gázkromatográfiás oszlopok alapvetően két csoportba sorolhatók (8.13. ábra): töltetes (packed) és kapilláris (capillary) oszlopok. Az előbbiek rendszerint rövidebbek (0,5–5 m) és nagyobb átmérőjűek (2–4 mm). Anyaguk lehet üveg, rozsdamentes acél, réz, alumínium. A töltet (amely akár kézzel is behelyezhető) jellemzően 30–400 μm -es szemcsékből áll. Jellemző gázáram 10–60 mL/perc.

A kapilláris (vagy csöves, open tubular) oszlopok rendszerint olvasztott kvarcból készülnek. Ezeket védő polimerréteg borítja kívülről. Hosszuk jellemzően 5–100 m, belső átmérőjük 150–300 μm . Jellemző gázáram 0,5–10 mL/perc. A kapilláris oszlopok az adszorbens típusa szerint lehetnek porózus belső rétegűek (*Porous Layer Open Tubular* – **PLOT**), nedvesített falúak (*Wall Coated Open Tubular* – **WCOT**) vagy hordozóréteggel bevont falúak (*Support Coated Open Tubular* – **SCOT**).



8.13. ábra

Kapilláris oszloptípusok [42]

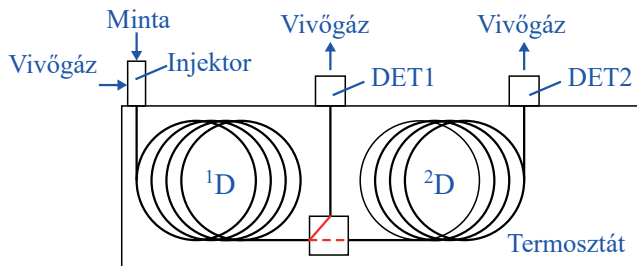
A kapilláris oszlop belsejében nemcsak szilárd adszorbens van jelen, hanem úgynevezett megosztó folyadék is, amely a vizsgálathoz alkalmazott hőmérsékleten folyékony, de nem illékony. Magas hőmérsékleten a vivőgázba kerülhet és a detektorba juthat, ahol a mérést zavarhatja, ez az úgynevezett „vérzés” jelensége. Rendszerint apoláris komponensek elválasztásához apoláris, poláris komponensek elválasztásához poláris adszorbens szükséges.

A gázkromatográf analitikai jelét a detektorok állítják elő. Az ideális detektor alacsony ki-mutatási határral rendelkezik, az általa előállított válaszjel széles tartományban egyenesen arányos a koncentrációval, a mérendő komponensekre nézve szelektív és kevésbé érzékeny a vivő-gázáramlásban és hőmérsékletben bekövetkező ingadozásokra. A detektorokban a detektorjel a rajtuk átáramló komponens mennyiségével lesz arányos. A szelektív detektorok képesek csak egy szűkebb vegyületsoport kimutatására. A tömegszelektív detektorok, tömegspektrométerek önmagukban is alkalmasak lehetnek minőségi és mennyiségi analízisre. Egyes detektorok egy-mással kombinálhatók is.

A fontosabb detektorok:

- hővezetőképességi detektor (*Thermal Conductivity Detector* – **TCD**);
- lángionizációs detektor (*Flame Ionization Detector* – **FID**);
- elektronbefogásos detektor (*Electron Capture Detector* – **ECD**);
- nitrogén-foszfor detektor (*Nitrogen Phosphorus Detector* – **NPD**);
- lángfotometriás detektor (*Flame Photometric Detector* – **FPD**);
- atomemissziós detektor (*Atomic Emission Detector* – **AED**);
- elektrolitikus vezetőképességi detektor (*Hall Electrolytic Conductivity Detector* – **HECD ELCD**);
- fotoionizációs detektor (*Photoionization Detector* – **PID**);
- kemolumineszcens detektor (*Chemiluminescence Detector* – **CLD**);
- héliumionizációs detektor (*Helium Ionization/Discharge Detector* – **HID**);
- Fourier transzformációs infravörös detektor (**FT-IR**);
- termoionizációs detektor (*Thermionic Ionization Detector* – **TID**);
- katalitikus égetéses detektor (*Catalytic Combustion Detector* – **CCD**);
- mágneses magrezonancia detektor (*Nuclear Magnetic Resonance* – **NMR**);
- tömegspektrométerek (*Mass Spectrometer* – **MS**).

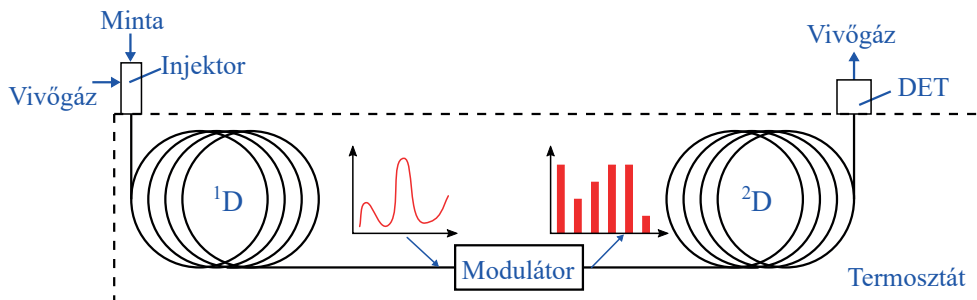
A multidimenziós kromatográfia dimenziói alatt az egymástól független elválasztási műveleteket értjük. Így például egy folyadékkromatográf és egy gázkromatográf sorba kapcsolva két-dimenziós rendszert alkot. A gázkromatográfia legmodernebb módszereinek tekinthető a multidimenziós gázkromatográfia (Multi-Dimensional, MDGC, vagy 2D-GC, mivel rendszerint két sorba kötött oszlopot tartalmaz, 8.15. ábra) és a komprehenzív gázkromatográfia (GCxGC, 8.14. ábra).



8.14. ábra

MDGC (2D-GC) kétdimenziós gázkromatográfia (Salamon Endre)

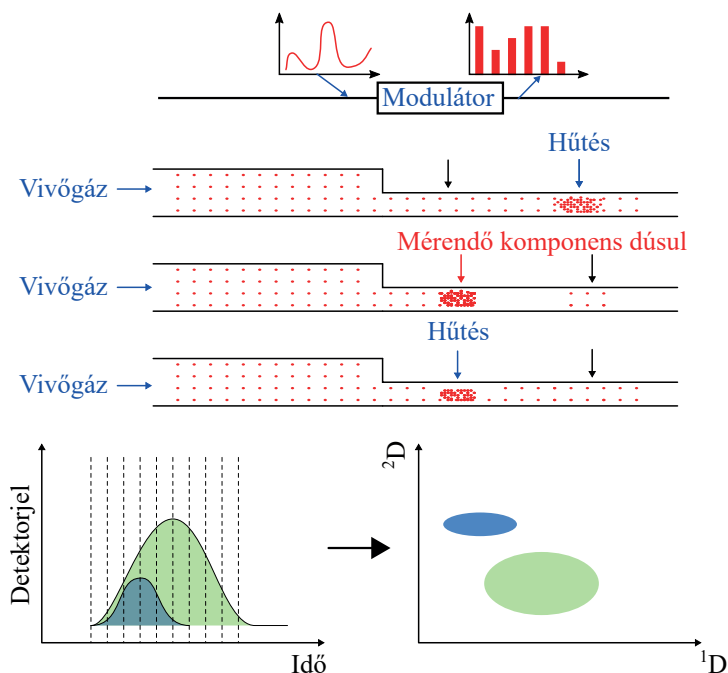
Az MDGC működési alapelve viszonylag egyszerű: egy megfelelő berendezés (kolonnaváltó szelep) segítségével az első (1D jelű) oszlopról lejövő vivőgáz (és a benne levő komponensek) egy adott részét, egy bizonyos időközben a DET1 detektor helyett a 2D jelű második oszlopra engedjük. Tehát lényegében az első oszlop végén kapott kromatogram egy szakaszát, időszelét „kivágjuk”, és a második oszlopra engedjük. Az angol nyelvű szakirodalom ezt az eljárást „heart-cut”-nak nevezi. A kivágott rész lehet egy tágabb vagy szűkebb tartomány is (egyetlen csúcs) az eredeti kromatogramról. Az eljárás célja, hogy az első oszlopon nem, vagy csak gyengén elkülönülő komponenseket a második oszlopon még jobb határfokkal lehessen szétválasztani, kisebb csúcs-szélességek elérésével. A két oszlop közé egy hideg csapda is elhelyezhető, amelyben akár többszöri injektálással az adott vegyület vagy a kromatogram „kivágott részei” feldúsíthatók. Ezek után a kolonnatermosztát újra lehűl, és a hideg csapda tartalmát egy hagyományos futtatás során a második oszlopon is átfuttatják. A második oszlop külön termosztátszekrényben is helyet foglalhat.



8.15. ábra

GCxGC komprehenzív gázkromatográfia (Salamon Endre)

A komprehenzív gázkromatográfia (GCxGC) az első oszlopról lejövő gázáram megosztása helyett egy úgynevezett modulátort (8.15. ábra) alkalmaz a felbontás növeléséhez. Ez lényegében a már tárgyalt kriofókuszálást valósítja meg, például úgy, hogy az oszlop két pontját felváltva hűti. A lehűtött részekben az egyes komponensek „megtorpannak”, mielőtt továbbhaladhatnának. Ezzel lényegében a hagyományos kromatogramot és csúcsait diszkrét, a moduláció idejéből következő szakaszokra lehet darabolni. Ennek következtében, a moduláció egy adott csúcsot is többfelé vághat, azaz ugyanabból a komponensből több csúcsot kapunk. A kapott nyers kromatogramot a moduláció periódusidejének megfelelően felszeletelve és transzformálva többdimenziós kromatogram nyerhető, az elválasztás és az analízis teljesítménye összeszorozódik, négyzetesen megnő.



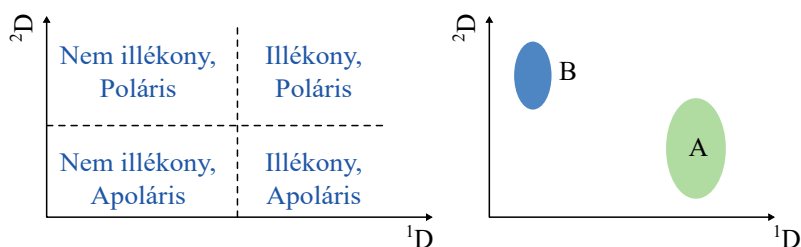
8.16. ábra

Moduláció és kromatogram transzformálása (Salamon Endre)

Amíg a MDGC esetében a második oszlop hossza és így a mérés ideje hasonló a hagyományos oszlopokéhoz, addig a GCxGC esetében a második oszlop rövidebb, ezért a mérés ideje is jelentősen lerövidül. A második oszlopban lévő adszorbensnek az elsőtől eltérőnek kell lennie, mivel a teljes mintamennyiség áthalad rajta, csak ilyen módon fog független, új dimenziót jelenteni. Ezzel kapcsolatban fontos fogalom az ortogonalitás.

Az ortogonalitás általában értelmezhető úgy, hogy amennyiben tökéletesen fennáll, a két mérési módszer (a két különböző dimenzió) által szolgáltatott eredmény független egymástól, az egyikből nem lehet megjósolni a másik eredményét. A GCxGC-módszer esetében ez azt jelenti, hogy a második oszlop adszorpciós tulajdonságainak, retenciós idejének különböznie kell az első-től, hiszen ha a két oszlop egyforma lenne, az eredményül kapott kétdimenziós kromatogramon a csúcsok a főátlón (ortogonálisan) helyezkednének el, és a két tengelyre nézve egyformák volnának, nem állítanának elő többletinformációt. A kétdimenziós kromatogram így az egyes csúcsok és komponensek kémiai tulajdonságai térképének tekinthető. A 8.17. ábrán például a második oszlop poláros, így a poláros komponensek gyorsabban jutnak át rajta (az abcisszához közelebb

helyezkednek el), míg a poláros vegyületek lassabban jutnak csak át rajta, ezért a grafikon felső részében fognak elhelyezkedni.

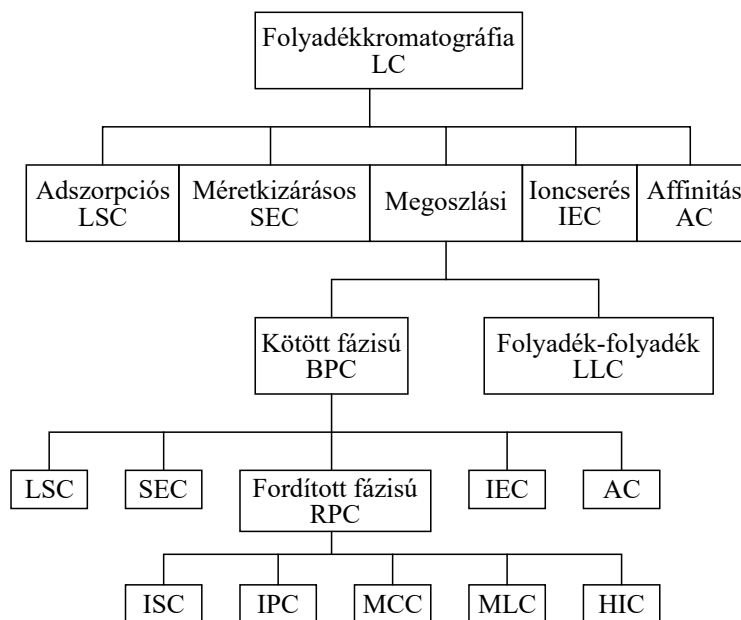


8.17. ábra

Kétdimenziós kromatogram. A vegyület: illékony, apoláris, B vegyület: nem illékony, poláris (Salamon Endre)

8.6.2. Folyadékkromatográfia

A folyadékkromatográfiai eljárások egy lehetséges csoportosítását mutatja be a 8.18. ábra.



8.18. ábra

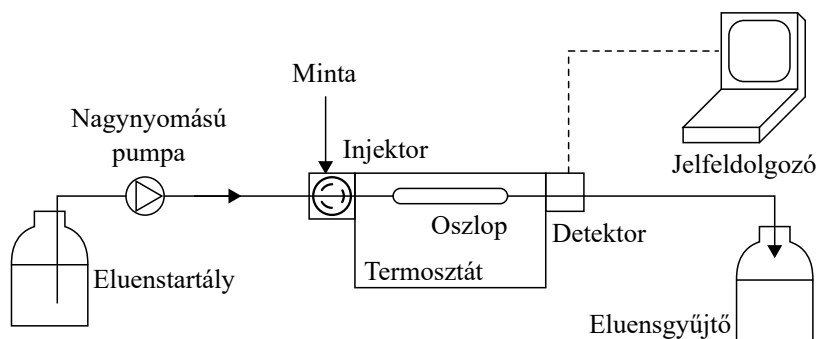
Folyadékkromatográfiai elválasztási módszerek csoportosítása [42]

Megjegyzés: kötött fázisú kromatográfia (Bonded Phase Chromatography – BPC), ion-elnnyomásos kromatográfia (Ion-Suppression Chromatography – ISC), ionpár-kromatográfia (Ion-Pair Chromatography – IPC), fémkomplexációs kromatográfia (Metal-Complexation Chromatography – MCC), micellakromatográfia (Micellar-Liquid Chromatography – MLC), hidrofób kölcsönhatás kromatográfia (Hydrophobic-Interaction Chromatography – HIC).

A normál fázisú (Normal Phase) folyadékkromatográfiában az állófázis polárosabb, mint a mozgófázis, a szétválasztott komponensek közül a polárosabbak erősebben kötődnek az állófázishoz. A fordított fázisú folyadékkromatográfiában (*Reverse Phase Chromatography – RPC*) a mozgófázisként használt oldószerek polárosabbak. Ez utóbbi megoldás általában költségesebb, mert a legtöbb szilárd állófázis természetéből adódóan poláros jellegű, nem polárossá tétele valamilyen nem poláros anyaggal történő bevonást igényel. A fordított fázisú kromatográfiánál, ha oldószergradienst is alkalmazunk, akkor az erősebben poláros oldószerral kezdve a kevésbé poláros felé haladva történik ez eluálás (normál fázis esetén pedig éppen fordítva). A bevonatos állófázist (Bonded Phase) használó kromatográfiás eljárások csupán annyiban különböznek a bevonat nélküli állófázist tartalmazótól, hogy esetükben az állófázis felülete valamilyen, az eredeti jellegét megváltoztató bevonatot tartalmaz.

A folyadékkromatográfiás eljárások egy részét oszlopkromatográfiaként valósítják meg, azaz a mozgófázis a gravitáció hatására áramlik át az oszlopba helyezett állófázison. Ezek többnyire preparatív kromatográfiás eljárások. Az úgynevezett flash kromatográfia során nyomás vagy vákuum segítségével gyorsítják az áramlást. Ezért ezt közepes nyomású folyadékkromatográfiának is nevezik.

A gázkromatográfiával analóg, leggyakrabban alkalmazott elúciós eljárás a nagy nyomású folyadékkromatográfia (*High Pressure Liquid Chromatography – HPLC*). A szakirodalomban más elnevezéssel is illetik, leggyakrabban nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiaként hivatkoznak rá (*High Performance*). Az eredeti „nagy nyomású” elnevezést először a technológia úttörője, Horváth Csaba használta 1970-ben, amikor a berendezések még csak körülbelül 35 bar nyomással üzemeltek. Röviddel ezután a technológia fejlődése már 400 bar körüli nyomás alkalmazását is lehetővé tette, ekkortól elterjedt a „nagy teljesítményű” elnevezés is. A 2004 utáni években, a technológia további fejlődésével, kisebb szemcseméretű (körülbelül 1,7 μm) állófázisok és még nagyobb nyomás (1000 bar) alkalmazásával már külön ultrahatékony folyadékkromatográfiáról (*Ultra High Performance – UHPLC* vagy *Ultra Performance Liquid Chromatography – UPLC*) is beszélhetünk. A magas nyomás elsősorban ahhoz szükséges, hogy a hatékony szétválasztást biztosító, de nagyobb nyomásvesztést okozó finom szemcsés állófázison is megfelelő sebességgel áramolhasson át a mozgófázis.



8.19. ábra

HPLC vázlata (Salamon Endre)

A HPLC rendszerint nagyobb beruházási és fenntartási költséget igényel, mint egy gázkromatográfiás rendszer, elsősorban a mozgófázis és az oszlopok miatt. Cserébe olyan szerves komponensek is mérhetőek folyadékkromatográfiás módszerekkel, amelyek nem kellően illékonyak a gáz-

kromatográfiás méréshez, vagy érzékenyek a magas hőmérsékletre. A folyadékkromatográfiában a mozgófázis és az állófázis poláris és apoláris jellege is széles tartományban változtatható, ezért az elválasztás határfoka is jobban beállítható, mint a gázkromatográfiában, ahol többnyire csak a különböző állófázisok között válogathatunk [43].

Egy HPLC-berendezés vázlata a 8.19. ábrán látható. Az injektor alacsonyabb nyomáson lehet fecskendővel működő, szeptummal ellátott kialakítású, amely közvetlenül az oszlopra történő (On-column) injektálást is lehetővé tesz, az áramlás megállításával vagy anélkül. Nagyobb nyomásokról különböző kialakítású mintabemérő hurkok használhatók.

A HPLC-készülékek rendszerint két oszlopot tartalmaznak, egy előtét (szűrő vagy védő, guard column) oszlopot és egy analitikai (analytical column) oszlopot. A védőoszlop rendszerint ugyanazt az állófázist tartalmazza, mint az analitikai oszlop, azonban annál jóval rövidebb (és olcsóbb). Feladata, hogy az irreverzibilisen megkötődő komponensektől és az esetleges szilárd, eltömődést okozó szemcséktől megvédje az analitikai oszlopot.

A HPLC-ben alkalmazott oszlopok állófázisa rendszerint 3–10 µm-es porózus szilikátszemcsékből áll, amelyek felületét a megfelelő tulajdonságokkal rendelkező folyadékfilmmel vonták be. Ez lényegében folyadék-folyadék kromatográfiát (LLC) valósít meg, a bevonat a gázkromatográfok kapilláris oszlopainak bevonatához hasonlóan megjelenhet a mozgófázisban, a detektornál (vérzés). A HPLC kombinálható ioncserét vagy méretkizárást megvalósító állófázisokkal is (HPLC-IEC, HPLC-SEC).

A HPLC-hez használt oszlopok rendszerint szobahőmérsékleten valósítják meg az elválasztást. Egyes készülékek lehetővé teszik a gázkromatográfiához hasonló hőmérsékletprogramok alkalmazását, de 70–80 °C-nál nagyobb hőmérséklet alkalmazása nem jellemző.

Az adott állófázishoz a megfelelő tulajdonságokkal rendelkező mozgófázist is jól meg kell választani. A legjobb elválasztást biztosító mozgófázis-összetétel szabványos ajánlások vagy kísérletezés útján határozható meg. Ha a mérés során a mozgófázis összetétele állandó, akkor izokratikus áramlásról (elúcióról) beszélünk. Gradiens elúció esetén a mozgófázis összetétele időben változik a mérés során.

A folyadékkromatográfok kiegészíthetők spektroszkópiai elven működő detektorokkal, ezek közül legegyszerűbb az UV-VIS-, de IR-tartományban mérő spektrofotométerek vagy spektro-fluoriméterek is használhatók. Szervetlen komponensek vizsgálatához atomspektroszkópiai módszerek (atomabszorpció, induktív csatolású plazma) elvén működő detektorok is alkalmasak. Az optikai módszerek közül a törésmutató mérésén alapuló detektálás is használható. Elsősorban szervetlen ionok vizsgálatához vezetőképesség-mérő elektród is szóba jöhet detektorként, de bonyolultabb elektrokémiai módszerekkel (amperometria, voltammetria, coulometria) is történhet a detektálás. A folyadékkromatográfok alkalmazhatnak NMR-detektorokat is.

A tömegspektrométereknek a folyadékkromatográfiában történő alkalmazása jelentős áttörést jelentett, és nagymértékben kiszélesítette a HPLC alkalmazását. A fő problémát az LC és az MS összekapcsolásánál az jelentette, hogy az MS-hez szükséges vákuumba a folyékony mozgófázis nem léphetett be, az oldott komponenseket szabad részecskékké kellett alakítani. A probléma megoldásán már 1968 óta dolgoztak, a megoldást az elektropray ionizáció (ESI) és az atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció (APCI) jelentette [44].

A kromatográfiás módszerek elválasztási hatékonysága és a hozzájuk kapcsolható detektorok, főként a tömegspektrométerek univerzális felhasználhatósága a GC-MS- és a HPLC-MS-technológiát tette a leginkább alkalmazott módszerré a szerves mikroszennyező anyagok vizsgálatán terén. Ezért napjainkra ezek váltak a leginkább szabványosított és kötelezően alkalmazott módszerré. Ezért amikor a feladat egy adott mikroszennyező anyag vizsgálata, akkor a módszer

kiválasztásánál először a kromatográfiai módszerek közül célszerű választani. Ha az adott komponens gyorsan és minimális minta-előkészítéssel mérhető valamilyen gázkromatográfiai módszerrel, akkor a GC-t kell előnyben részesíteni, egyéb esetben a HPLC-t. Néhány kromatográfiai módszer különböző mikroszennyezőkre jellemző méréshatárait sorolja fel a 8.7. táblázat.

8.7. táblázat

Néhány jellemző mérési tartomány kromatográfiai szabványokban (Salamon Endre)

Szabvány	Komponens	Méréshatárok	Módszer
EPA 501.1	THM	0,5–1500 µg/L	Purge & Trap, GC-ELCD
EPA 501.3	THM	> 0,07 µg/L	Purge & Trap, GC-MS
EPA 502.2	60-féle VOC	0,02–200 µg/L	Purge & Trap, GC-ELCD
EPA 508	38-féle peszticid	>0,0015–5 µg/L	Folyadék-folyadék extrakció, GC-ECD
EPA 508.1	45-féle peszticid	>0,001–0,015 µg/L	Folyadék-szilárd extrakció, GC-ECD
EPA 8021b	58-féle VOC	0,1–200 µg/L	Folyadék-szilárd extrakció, GC-PID-ELCD
EPA 8240B	82-féle VOC	0,5 mg/kg; 5 µg/L	Purge & Trap, GC-MS
EPA 1694	74-féle gyógyszermaradvány	>1 ng/L	LC-MS/MS
MSZ EN 16693:2016	Szerves klórtartalmú peszticidek	< 0,00015–0,1 µg/L	SPE, GC-kvadrupól MS, EI ionizáció
MSZ EN 16691:2016	PAH	1–2000 µg/L	SPE, GC-kvadrupól MS, EI ionizáció

8.7. Minták előkészítése

Mind a kromatográfiai, mind a más elven működő módszerek megkövetelik a minta előkészítését. A minta-előkészítési módszerek rendszerint elválaszthatatlanok az őket követő műszeres méréstől, az adott műszer egyedi jellemzőitől. A műszeres mérés elve egy adott berendezésre minden esetben ugyanaz, legfeljebb az egyedi készülékek jellemzői különböznek a gyártótól függően. A minta-előkészítésről azonban ez már nem mondható el: ugyanaz a vegyület különböző mintákból, különböző előkészítési módszerekkel is mérhető formába hozható egy adott műszerhez. A minta-előkészítés módját rendszerint vegyületcsoportonként, vegyületenként szabványok írják elő (amelyek ráadásul a minta jellegétől, a vizsgálat céljától függően is változnak). A szerves mikroszennyező anyagok sokfélesége miatt így a speciális minta-előkészítési eljárások száma is olyan nagy, hogy azokat nem célszerű egyenként, külön tárgyalni [45].

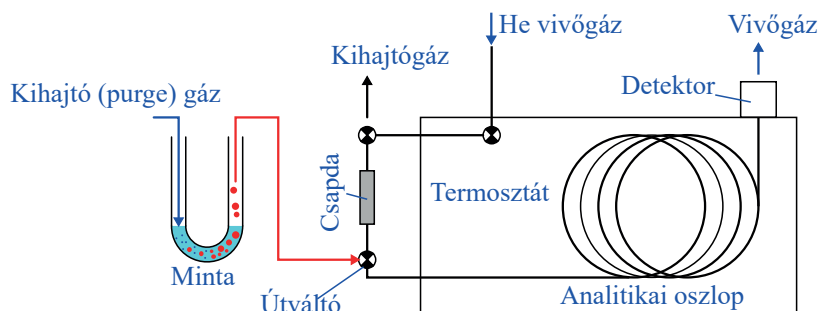
Röviden a legfontosabb, kromatográfiahoz kapcsolódó injektálási módszereket is meghatározó minta-előkészítési módszereket ismertetjük a teljesség igénye nélkül, kihagyva az olyan elemi eljárások részletezését, mint a közönséges folyadék-folyadék extrakció, a desztilláció vagy a különböző roncsolási eljárások.

A minta-előkészítés különösen fontos minden nagyműszeres mérésnél. Azon túl, hogy a minta-előkészítésnél alkalmazott módszer összefügg az injektálási móddal is, olyan alapvető okokból is szükség lehet rá, mint a minta dúsítása vagy hígítása. A legtöbb gázkromatográfiai oszlop és detektor működését zavarja a víz jelenléte, ezenfelül a víz csökkentheti a kolonna és a detektor élettartamát is. Gázkromatográfiai méréseknél a minta-előkészítés legfőbb célja, hogy a mintát gáz vagy elpárologtatható formába hozza. Ilyen technológia például a statikus gőztér (headspace) injektálás, vagy purge and trap módszer.

Statikus gőztér injektálás (*Headspace* – **HS** vagy *Static Headspace Extraction* – **SHE**) esetén a minta-előkészítés szorosan kapcsolódik az injektáláshoz. Egy folyadék (ritkán szilárd) mintával részben megtöltött, légmentesen lezárt fiolát termosztátban (agitátorban) adott hőmérsékleten tartunk, amíg a vizsgált komponens folyadék- és gázfázisbeli koncentrációjában beáll az egyensúly. Természetesen ezt megelőzően további előkészítés is alkalmazható: a vizsgált komponenst kisé-

zással is ki lehet űzni a mintából, vagy extrakcióval dúsítani, így növelve az érzékenységet. A tű ezután a mintatartó gőzterébe szűr be és onnan juttatja be a gázmintát a kromatográf injektorába. Ezzel a módszerrel az injektorban teljesen kiküszöbölhető az oldószer kondenzációja, hiszen ezzel a technikával csak a minta illékony komponensei jutnak be az injektorba. A módszer jól kiegészíthető a már ismertetett oldószer-csapdázással is.

Gáz sztrippeléses módszerek („purge and trap”, dinamikus gőztér injektálás/extrakció, *Dynamic Headspace Extraction – DHE*, 8.20. ábra) alkalmazása során a mintán inert gázt vezetnek át, amely az illékony komponenseket kihajtja, és egy csapdára vezeti. A csapda rendszerint egy adszorber, amely rövid gázkromatográfias oszlopként fogható fel. A csapda felfűtésével a benne megkötött vizsgálandó komponensek áttörnek, és a gázkromatográfra kerülnek. A csapda erősen és gyengén adszorbeálódó anyagot is tartalmaz, kialakítása olyan, hogy a kevésbé illékony anyagok lehetőleg ne kerüljenek kapcsolatba az erősen adszorbeáló résszel.



8.20. ábra

Purge and trap injektálás vázlata [42]

A termikus deszorpciós módszerek lényegében az előző módszernél ismertetett elven működnek: a szilárd adszorbenst vagy szilárd mintát fűtve az illékony komponensek elpárolognak, és a vivógázzal a kromatográfra juttathatók, ahol rendszerint kriofókuszálást is alkalmaznak [46].

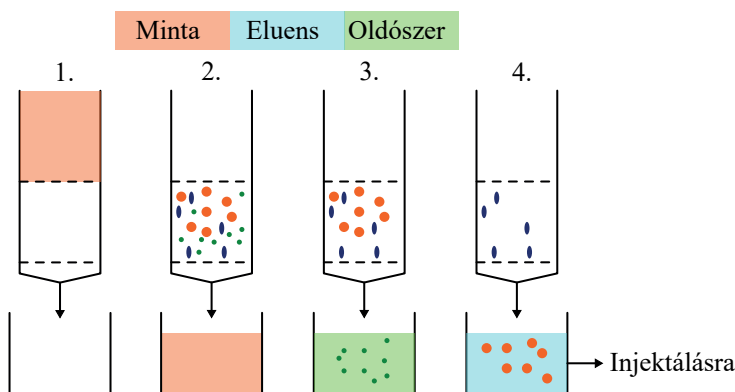
A kevésbé illékony komponensek extrakciójához használt módszerek:

- Soxhlet-extrakció;
- mikrohullámmal segített extrakció (*Microwave Assisted Extraction – MAE*);
- ultrahanggal segített extrakció (*Ultrasound Assisted Extraction – USAE*);
- gyorsított oldószeres extrakció (*Accelerated Solvent Extraction – ASE*);
- nagy nyomású folyadékextrakció (*Pressurized Liquid Extraction – PLE*);
- nagy nyomású fluid extrakció (*Pressurized Fluid Extraction – PFE*);
- szuperkritikus fluid extrakció (*Supercritical Fluid Extraction – SFE*);
- membránalapú extrakció (*Membrane Extraction – ME*).

A minta-előkészítésben ezen túlmenően maguk a kromatográfias (frontális, kiszorítós) módszerek is felhasználhatók. További általánosan alkalmazott eljárás az előkészítés során a származékképzés (derivatizálás). Ennek célja lehet például az illékonyosság növelése, vagy a vizsgálandó anyag detektálhatóvá tétele valamilyen kémiai átalakítással [46].

Az egyik talán legkényelmesebb minta-előkészítési (és egyben injektálási) eljárásnak a szilárd fázisú extrakciós (*Solid Phase Extraction – SPE*, 8.21. ábra) eljárások tekinthetők. Ezeknek az eljárásoknak az általános jellemzője, hogy egy szilárd adszorbenst a vizsgálandó mintába (folyadékba, folyadék gőzterébe vagy gázba) helyeznek, amelyen az adszorpció révén a vizsgálandó komponensek egyensúlyi folyamatban megkötődnek. Ezután a vizsgálandó anyagokat az adszor-

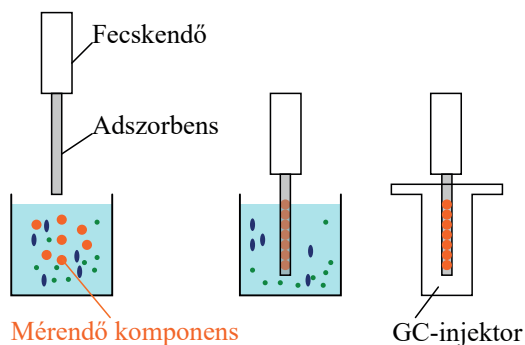
bensről termikusan, vagy más módszerrel leválasztják, és az eluensbe (gázkromatográf esetén a vivőgázba) juttatják. Az eljárás előnye a klasszikus extrakciós minta-előkészítéssel szemben, hogy kevés oldószert igényel, automatizálható, időigénye kisebb. A megfelelő adszorbens kiválasztása lehetőséget nyújt a módszer szelektívvé tételére úgy, hogy csak adott vizsgálandó komponensek kötődjenek meg az adszorbensen. Ezáltal az SPE gazdaságosabb, kevesebb véletlen hibára ad lehetőséget, és a vizsgált komponensek dúsítása is elérhető vele.



8.21. ábra

SPE-módszer elve. 1) Minta eluálása; 2) Minta eluálása után a mérendő és a zavaró komponensek a tölteten maradnak; 3) Az oldószerrel eltávolítjuk a nemkívánatos egyéb komponensek egy részét; 4) Az eluenssel a mérendő anyagokat átvisszük az injektált mintába, a zavaró anyagok egy része a tölteten marad [42]

A szilárd fázisú mikroextrakció (*Solid Phase Microextraction – SPME*, 8.22. ábra) abban különbözik a *SPE*-től, hogy az *SPME* kis mennyiségű, egy vékony tűszerű kvarcszála vagy kapilláris belsejében rögzített adszorbensen csak a mérendő komponensek egy részét (1–20%) adszorbeálja, de az adszorbeált komponensek teljes mennyiségét a gázkromatográfba juttatja. Az *SPME*-módszer megismételhetőségét minden olyan tényező befolyásolja, amely hatással van az adszorpciós egyensúlyra (pH, hőmérséklet, koncentráció, extrakció ideje stb.).



8.22. ábra

SPME-módszer [42]

Az **SPME** azonban számos előnnyel is rendelkezik: oldószermentes, könnyen alkalmazható, két lépésben (szorpció/deszorpció) megoldható a mintabevitel, nagy dúsítás érhető el, adott anyagra specifikussá tehető, kis mennyiségű mintát igényel, élő, folyamatosan működő rendszerek mintavételezése is lehetséges, az adszorbens többször is újra használható. Az SPME kombinálható a már ismertetett statikus és dinamikus gőztérinjektálással is [47].

Az **SPME**-eljárásokat az extrakció/adszorpció és a deszorpció módja szerint általánosan a következők szerint lehet besorolni:

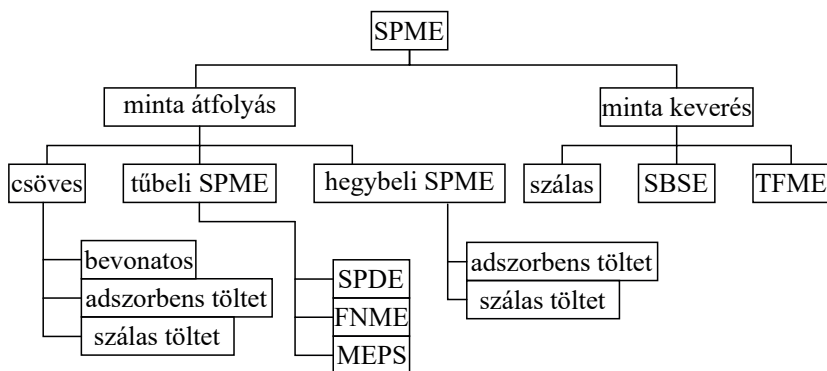
Extrakciós módszerek:

- közvetlen, bemerítéses (Direct Immersion, **DI**);
- gőztér, fejtér (Headspace, **HS**);
- védőmembrános.

Deszorpció módszerek:

- termikus;
- folyadék;
- lézeres.

Az **SPME** kialakítása szerint számos elrendezés létezik, amelyek folyamatosan fejlődnek és változnak. Alapvetően a szálas („fiber”) kialakítást és a csöves („in-tube”) kialakítást lehet megkülönböztetni. Az előbbinél az adszorbent tartalmazó szálát a mintába merítik, majd az adszorpció egyensúly beállta után a kromatográfba deszorbeálják a megkötött mérendő komponenseket. A csöves megoldást elsősorban folyadékkromatográfoknál (**HPLC**) alkalmazzák. Ennél az adszorbens egy vékony kapilláris cső belsejében foglal helyet. Az SPME-módszerek további változatait a teljesség igénye nélkül a 8.23. ábra szemlélteti:



8.23. ábra

SPME-módszerek [42]

A keverőpálcás szorpció extrakció (*Stir-Bar Sorptive Extraction – SBSE*) esetében egy mágneses keverőt helyeznek a folyadékmintába, amely adszorbenssel van bevonva. Az extrakció után a keverőpálcát eltávolítják. Gázkromatográfias alkalmazás esetében csipesszel vagy egy fiolába helyezik oldószer hozzáadása mellett, vagy közvetlenül az erre a célra szolgáló speciális, fűtött injektorportba. Folyadékkromatográf esetén közvetlenül az eluens folyadékba is helyezhető. A sima szálas megoldást használó **SPME**-hez képest hátrány, hogy az eljárás nehezen automatizálható.

A vékonyréteg mikroextrakció (*Thin-Film Microextraction – TFME*) esetében egy vagy több síklapra felvitt vékony adszorbens rétegre történik az extrakció. Ezek geometriai kialakítására számos megoldás létezik, akár kör alakú tányérok egymás felett toronyszerűen elhelyezve, akár

egy keverőlapátot beborítva velük. Általában első lépésben a lapokat kondicionálják, majd érintkeztetik a mintával. Ezután megtisztítják az esetleges zavaró komponensektől, majd a deszorpciót megvalósító oldószerbe történő áztatás után az oldószerből lehet a kromatográfba injektálni. A TFME-lapok bármilyen halmazállapotú mintával érintkeztethetők.

A dinamikus szilárd fázisú extrakció (*Solid-Phase Dynamic Extraction – SPDE*) során a mérendő komponenseket a folyadékmintából vagy annak gőzteréből egy rozsdamentes acél-fecskendő tű belsejébe felvitt rétegre adszorbeáltatják. Ehhez a fecskendő dugattyújának többszöri fel-le mozgatásával történik a minta bejuttatása a tűbe. A deszorpció közvetlenül megvalósítható a gázkromatográf fűtött injektorában.

A töltetes fecskendővel végzett mikroextrakció (*Microextraction by Packed Syringe – MEPS*) a hagyományos SPE kicsinyített változata, amelynél az adszorbens töltet a fecskendő tűjében foglal helyet. Miután a töltetet vegyszeresen kondicionálták, a fecskendő segítségével a tűben lévő adszorbenst többszörösen átöblítik a mintával. Ezután a deszorpcióhoz a tűt szerves oldószerrel (vagy folyadékkromatográf esetén az eluenssel) öblítik át, amely már injektálható a kromatográfba. A szállal töltött tűt alkalmazó módszer (*Fiber-Packed Needle Microextraction – FNME*) ettől annyiban különbözik, hogy itt a tű nem szemcsés, hanem szálas töltetet tartalmaz.

A hegybeli SPME technikák abban különböznek az előzőekben leírt módszerektől, hogy az adszorbenst nem egy fecskendő tűjében, hanem pipettahegyekben helyezik el. Az extrakció általában ilyenkor külön munkafázisban történik, és az extrahált mintának csak egy részét injektálják, ami kisebb érzékenységet eredményez. Másrészt több hegy segítségével több minta is extrahálható párhuzamosan, automatizálható módon [48].

Bibliográfia

1. Fassel VA. Analytical inductively coupled plasma spectroscopies — past, present, and future. *Z Anal Chem.* 1986;324(6):511–518.
2. Hieftje GM. Atomic Emission Spectroscopy — It Lasts and Lasts and Lasts. *J Chem Educ.* 2000;77(5):577.
3. Harvey D. Analytical Chemistry 3.0. Greencastle, Indiana: DePauw University; 2019.
4. Armbruster DA, Pry T. Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation. *Clin Biochem Rev.* 2008;29(Suppl 1):S49–S52.
5. Wenzl T, Haedrich J, Schaechtele A, Robouch P, Stroka J. Guidance Document for the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food. 2016. [cited 2020 Jun 12] Elérhető: www.researchgate.net/publication/304660084_Guidance_Document_for_the_Estimation_of_LOD_and_LOQ_for_Measurements_in_the_Field_of_Contaminants_in_Feed_and_Food
6. Taleuzzaman M. Limit of Blank (LOB), Limit of Detection (LOD), and Limit of Quantification (LOQ). *Organic & Medicinal Chemistry.* 2018;7(5).
7. Thomas O, Cerdà V. UV-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater. 2nd edition. Elsevier Science; 2017. p. 21–46.
8. Linstrom PJ, Mallard WG. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69. Gaithersburg MD, 20899: National Institute of Standards and Technology; 2018.
9. Noella A, Hartmann GK, Lary D, Palm WU, Vandaele AC, Wayne RP, et al. UV-Visible Spectra Data Base., 4th Edition on CD-ROM. 2006.
10. Perkampus HH. UV-VIS atlas of organic compounds. VCH; 1992. 324 p.
11. Spinelli S, Gonzalez C, Thomas O. Chapter 11 – UV spectra library. In: Thomas O, Burgess C, editors. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry. UV-Visible Spectrophotometry of Water and Wastewater. Elsevier Science; 2007. p. 267–356.

12. Vogt F, Tacke M, Jakusch M, Mizaikoff B. A UV spectroscopic method for monitoring aromatic hydrocarbons dissolved in water. *Analytica Chimica Acta*. 2000;422(2):187–198.
13. Wittkamp BL, Hawthorne SB, Tilotta DC. Determination of Aromatic Compounds in Water by Solid Phase Microextraction and Ultraviolet Absorption Spectroscopy. 1. Methodology. *Anal Chem*. 1997;69(6):1197–1203.
14. Suhandy D, Yulia M. Luwak Coffee Classification Using UV-Vis Spectroscopy Data: Comparison of Linear Discriminant Analysis and Support Vector Machine Methods. *Aceh International Journal of Science and Technology*. 2018;7(2):115–121.
15. Silva AA, Keukeleire DD, Cardoso DR, Franco DW, editors. Multivariate analyses of UV-Vis absorption spectral data from cachaça wood extracts: a model to classify aged Brazilian cachaças according to the wood species used. 2012.
16. Terra LR, Catrinck MN, Teófilo RF. MCR-ALS applied to the quantification of the 5-hydroxymethylfurfural using UV spectra: Study of catalytic process employing experimental design. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2017;167:132–138.
17. Hach Company. DR 2800 Spectrophotometer procedures manual. 2nd edition. 2007 June.
18. Brown CW. Ultraviolet, Visible, and Near-Infrared Spectrophotometers. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2000;35(3):151–173.
19. Sliney DH, Bitran M, Murray W. Infrared, Visible, and Ultraviolet Radiation. *Patty's Toxicology: American Cancer Society*; 2012:169–208.
20. Gaffney JS, Marley NA, Jones DE. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Characterization of Materials: American Cancer Society*; 2012:1–33.
21. Jähne B. *Digital Image Processing*. 5 edition. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2002.
22. Gowen AA, Tsenkova R, Bruen M, O'donnell C. Vibrational Spectroscopy for Analysis of Water for Human Use and in Aquatic Ecosystems. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2012;42(23):2546–2573.
23. Nagy B. *Környezet diagnosztika fizikai módszerei – 6. Infravörös spektroszkópia*. Pécs: PTE TTK, Környezetfizika és Lézerspektroszkópia Tanszék; 2010.
24. Vatanserver F, Hamblin MR. Far infrared radiation (FIR): its biological effects and medical applications. *Photonics Lasers Med*. 2012;4:255–266.
25. Rachel N, Baçaoui A, Daouda K, Nsami N, Gaelle D, Abdelrani Y, et al. Optimization Study of the Removal of Atrazine from Aqueous Solution on to Composite Activated Carbon-Silver Using Response Surface Methodology. *Materials Sciences and Applications*. 2017;08:258–272.
26. Yi Z, Tang Q, Jiang T, Cheng Y. Adsorption performance of hydrophobic/hydrophilic silica aerogel for low concentration organic pollutant in aqueous solution. *Nanotechnology Reviews*. 2019;8(1).
27. Macías-García A, García-Sanz-Calcedo J, Carrasco-Amador JP, Segura-Cruz R. Adsorption of Paracetamol in Hospital Wastewater Through Activated Carbon Filters. *Sustainability*. 2019;11(9):2672.
28. Gowen A, Tsuchisaka Y, O'Donnell C, Tsenkova R. Investigation of the Potential of Near Infrared Spectroscopy for the Detection and Quantification of Pesticides in Aqueous Solution. *American Journal of Analytical Chemistry*. 2011;2.
29. Pejcic B, Myers M, Ross A. Mid-Infrared Sensing of Organic Pollutants in Aqueous Environments. *Sensors (Basel)*. 2009;9(8):6232–6253.
30. Robinson JW, Frame ES, Frame II GM. *Undergraduate Instrumental Analysis*. CRC Press; 2014. 1262 p.
31. Denson SC, Pommier CJS, Denton MB. The Impact of Array Detectors on Raman Spectroscopy. *J Chem Educ*. 2007;84(1):67.
32. Li G, Chen M, Wei T, editors. Application of Raman Spectroscopy to Detecting Organic Contaminant in Water. *Proceedings – 2009 IITA International Conference on Control, Automation and Systems Engineering*. CASE 2009; 2009/00/12/.
33. Li Z, Wang J, Li D. Applications of Raman spectroscopy in detection of water quality. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2016;51(4):333–357.
34. Wasswa J, Mladenov N, Pearce W. Assessing the potential of fluorescence spectroscopy to monitor contaminants in source waters and water reuse systems. *Environmental Science: Water Research & Technology*. 2019;5(2):370–382.

35. Pokol G, Szatisz J. *Analitikai kémia I.* Budapest: Műegyetemi Könyvkiadó; 1999.
36. Ateia M, Zheng T, Calace S, Tharayil N, Pilla S, Karanfil T. Sorption behavior of real microplastics (MPs): Insights for organic micropollutants adsorption on a large set of well-characterized MPs. *Science of The Total Environment.* 2020;720:137634.
37. Pingarrón J, Labuda J, Berek J, Brett C, Camões M, Fojta M, et al. Terminology of electrochemical methods of analysis (IUPAC Recommendations 2019). *Pure and Applied Chemistry.* 2020;92:641–694.
38. Smyth WF, Healy JA. The electroanalysis of organic pollutants in aquatic matrices. *Science of The Total Environment.* 1984;37(1):71–81.
39. Garrido E, Delerue-Matos C, Lima JLFC, Oliveira-Brett A. Electrochemical Methods in Pesticides Control. *Analytical Letters.* 2004;37:1755–1791.
40. Schaeffer-Reiss C. A Brief Summary of the Different Types of Mass Spectrometers Used in Proteomics. In: Thompson JD, Ueffing M, Schaeffer-Reiss C, editors. *Functional Proteomics: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology.* Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 3–16.
41. Ettre LS. Appendix 12a. Nomenclature for Chromatography (IUPAC Recommendations 1993). In: Wilson ID, editor. *Encyclopedia of Separation Science.* Oxford: Academic Press; 1993. p. 4712–4753.
42. Goldsmith JG. *Modern Analytical Chemistry, 1st edition (Harvey, David).* *J Chem Educ.* 2000;77(6):705.
43. Hamilton R. *Introduction to high performance liquid chromatography.* Springer Netherlands; 1982.
44. Pullen F. The fascinating history of the development of LC-MS; a personal perspective. *Chromatography Today.* 2010(February/March).
45. Martín-Pozo L, de Alarcón-Gómez B, Rodríguez-Gómez R, García-Córcoles MT, Çipa M, Zafra-Gómez A. Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review. *Talanta;* 2019;192:508–533.
46. Falaki F. Sample Preparation Techniques for Gas Chromatography. In: Kusch P, editor. *Gas Chromatography – Derivatization, Sample Preparation, Application.* 2019.
47. Merkle S, Kleeberg KK, Fritsche J. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis — A Review. *Chromatography.* 2015;2:293–381.
48. Woolfenden E. Chapter 10 – Thermal Desorption for Gas Chromatography. In: Poole CF, editor. *Gas Chromatography.* Amsterdam: Elsevier; 2012. p. 235–289.