

A szerves mikroszennyezők mérése a környezetben

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.

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. 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. A mérési módszer megválasztása során törekedni kell a szabványos, általánosan használt eljárások alkalmazására.

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).

A mérési módszerek minősítése

A legtöbb műszeres módszer (de elméleti szempontból a klasszikus mérési módszerek is) egy, a mérendő jellemzőtől (koncentrációtól, c) függő jelet (S) vagy eredményt szolgáltat. Jelként értelmezhetjük például egy kromatográfiás csúcs területét, egy oldat abszorbanciáját vagy a bürettaról leolvasott fogást.

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 hatásoktól való mentességét.

A jó módszerek azok, amelyeknél a jelet más anyagok nem befolyásolják, illetve az érzékenységük 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 (LoB, *limit of blank*) az a látszólagos koncentrációja a mérendő anyagnak, amelyet akkor kapunk eredményül, amikor a mérendő anyagot nem tartalmazó (vak) mintát vizsgáljuk az adott módszerrel.

A kimutatási (detektálási) határ (LoD, *limit of detection*) az a koncentrációja a mérendő anyagnak, amely már elfogadható megbízhatósággal megkülönböztethető a vakhatárértéktől, a mérendő anyagot nem tartalmazó mintára kapott jeltől.

A meghatározási határ (LoQ, *limit of quantitation*) az a legkisebb koncentráció, ahol a mérendő anyagnak már nemcsak a jelenléte mutatható ki megbízhatóan, hanem mennyisége is az előírt biztonsággal meghatározható. A LoB, LoD és LoQ kiszámítható a minták megismételt méréseire

kapott eredmények statisztikai értékelésével, egyszerű normál eloszlás feltételezésével vagy más, bonyolultabb statisztikai módszerekkel is.

A szerves mikroszennyezők kimutatására használható módszerek

Spektroszkópiai módszerek

A legtöbb, szerves mikroszennyező anyagok kimutatására és mérésére alkalmas módszert a leg-hatékonyabban 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 ugyan-abból a mintából rendszerint problémás. Ezért a különféle elveken alapuló eszközök többsége kromatográfiás detektorként is alkalmazható, illetve a kromatográfia lehet minta-előkészítő művelet ezek alkalmazásához.

A spektroszkópiai eszközök kromatográfiás detektorként vagy önállóan is alkalmasak külön-böző szerves komponensek kimutatására. Az atom- és molekulaszpektroszkópia leggyakoribb, kromatográfiás elválasztás nélkül is alkalmazható módszereinek főbb csoportjai:

- UV-VIS-spektrofotometria (vegértékelektronok rezgései);
- IR-spektroszkópia (molekularezgések);
- Raman-spektroszkópia;
- Lumineszcencia spektroszkópia:
 - Fluoreszcens spektroszkópia
 - Foszforeszcens spektroszkópia
 - Röntgen fluoreszcens spektroszkópia (FRF, *X-Ray fluorescence spectroscopy*)
- Mikrohullámú spektroszkópia
- Rádióspektroszkópia:
 - Elektron spin rezonancia (ESR, *electron spin resonance*)
 - Elektron paramágneses rezonancia (EPR, *electron paramagnetic resonance*)
 - Mágneses magrezonancia (NMR, *nuclear magnetic resonance*).

A molekulaszpektroszkópia a szerves mikroszennyező anyagok analízisére elterjedt eljárás. Az atomspektroszkópia az egyes, meghatározott elektronszerkezettel rendelkező atomok által elnyelt és kibocsátott elektromágneses hullámokat vizsgálja, ezért elsősorban az elemanalízis-ben használatos, és rendszerint csak az egyéb (nehézfém, foszfor stb.) atomokat is tartalmazó szerves vegyületek vizsgálatánál vehető számításba. A molekulaszpektroszkópia ezzel szemben a molekulák elektronjainak és atomjainak, atomcsoportjainak elektromágneses hullámokkal való kölcsönhatásán alapul.

Az UV-VIS-fotométert használó módszerek közül érdemes külön megemlíteni az immunpró-bán (*immunoassay*) alapuló módszereket. Ezek többsége általában kvalitatív vagy félkvantitatív módszer, alkalmazásuk igen széles körű. Alkalmasak például peszticidek, TPH, PCB vizsgálatára.

Az immunpróba a műanyag küvetták falára előre felvitt, a mérendő komponensre szelektív antitesteket alkalmaz. Ezek képesek megkötni és kivonni a mintamátrixból a mérendő kompo-nenst. Az előkészített mintát és egy reagenst (amely enzimkonjugált molekulákat tartalmaz) a küvettába helyeznek. Az inkubációs idő alatt az enzimkonjugált molekulák és a mérendő kompo-nens verseng az antitesteken található kötőhelyekért. A több mérendő komponenst tartal-mazó 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 lévő mérendő komponens mennyiségével. Az abszorbanciát a kalibráció során kapott értékekkel összehasonlítva a mérendő komponens mennyisége meghatározható [120].

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 fényelnyelésért elsősorban nem a vegyértékelektronok állapotai közti átmenetek felelősek, hanem a molekulák és funkciós csoportjaik különböző rezgései és forgásai.

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 (FTIR vagy FT-IR, *fourier transform infrared spectroscopy*). 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 IR-tartományban gyakran alkalmazott módszer a Raman-spektroszkópia, amely a szórt fény spektrum csúcsai eltolódásának mérésével minőségi analízist is lehetővé tesz.

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 valószínűsége viszonylag nagy, és a gerjesztett állapot átlagos élettartama 10^{-5} – 10^{-8} s, emiatt a fluoreszcencia gyorsan megszűnik, ha a gerjesztő hatást megszüntetjük. Foszforeszcenciánál a gerjesztett állapot átlagos élettartama rövidebb, 10^{-4} – 10^4 s, tehát jóval azután is fennmaradhat, hogy a gerjesztő hatást megszüntetjük.

A legtöbb szervetlen ion vizsgálatára a lumineszcencia alkalmatlan, ezeket közvetetten 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, huminanyagok.

A fluoriméterekkel meghatározható koncentrációt a háttérben lévő egyéb szerves anyagok zavaró hatása erősen befolyásolja. A spektrofluoriméterek alkalmasak lehetnek akár tíz ppb alatti koncentrációk mérésére is [121].

Termoanalitikai módszerek

A leggyakrabban alkalmazott termoanalitikai módszerek a következőképpen csoportosíthatók:

- termogravimetria (TG, *thermogravimetry*, vagy TGA, *thermogravimetry analysis*) és derivatív termogravimetria (DTG, *derivative thermogravimetry*);
- differenciális termoanalízis (DTA, *differential thermal analysis*) és pásztázó kalorimetria (DSC, *differential scanning calorimetry*);
- fejlődőgáz-mérés (EGD, *evolved gas detection*) és fejlődőgáz-analízis (EGA, *evolved gas analysis*).

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 analizisére jól használható [122].

Elektrokémiai módszerek

Az elektroanalitikai módszerek többsége elméletben alkalmas szerves mikroszennyező anyagok vizsgálatára is. Az IUPAC az egyes módszereket a mért és vezérelt elektromos jellemzők (elektródpotenciál, áramerősség, töltés stb.) alapján a következők szerint csoportosítja [123]:

- potenciometria (*potentiometry*),
- amperometria (*amperometry*),
- voltametria (*voltammetry*),
- coulometria vagy coulombmetria, közvetlen (*direct coulometry, direct coulombmetry*),
- konduktometria (*conductometry*),
- impedimetria (*impedimetry*).

A határfelületi elektrokémiai módszerekkel szemben, amelyeknél a kémiai reakciók az elektródokon játszódnak le, meg szokták különböztetni az „oldattömegi” módszereket, amelyek az oldat belsejének, egy nagyobb térfogatának valamilyen elektromos tulajdonságát vizsgálják [124]. Ez utóbbi típusba a konduktometria tartozik.

Az elektroanalitikai műszerek vizes oldatokkal is jól használhatók, részben közvetlen mérésre, részben kromatográfiás vagy más előkészítés után. Karbonilcsoportot tartalmazó vegyületek mérésére már az 1980-as években is ismert volt a 0,25 µg/L, fenolokra 1 µg/L kimutatási határral rendelkező módszer [125]. Modernebb alkalmazások, például csepegő higanyelektród (DME, *dropping mercury electrode*) vagy az adszorptív sztripping voltametria (AdSV, *adsorptive stripping voltammetry*) és változataik 1 µg/L – 1 ng/L koncentrációban is alkalmasnak bizonyultak peszticidek mérésére [126]. Ennek ellenére az elektrokémiai módszerekkel többnyire csak a szakirodalomban találkozhatunk, a szabványos eljárások inkább kromatográfiás módszereket tartalmaznak.

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 hosszúságú utakat tesznek meg, eltérő ideig tartózkodnak az analizátorban, térben egymástól elválnak, külön detektálhatók.

Az ionizációt megvalósító ionforrásoknak és a tömeganalizátoroknak számos típusa létezik. Detektorként rendszerint elektronsokszorozót alkalmaznak. Az ionizáció célja, hogy a tömegspektrométer számára analizálható, különböző tömeggel és töltéssel rendelkező ionokat, fragmenteket hozzon létre. Az ionizációnak többféle módszere, a tömeganalizátoroknak számos típusa létezik.

A tömeganalizátor előtt, az ionizáció után általában szükséges egy úgynevezett ionoptika, amely biztosítja, hogy az ionok azonos kinetikus energiával, egy nyalábban jussanak az analizátorba.

A tömegspektrométerek teljesítményének legfontosabb jellemzője az érzékenység (a legkisebb kimutatható tömeg vagy részecskeszám, ami akár 10^{-21} mol 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. A leggyakrabban rutinvizsgálatokhoz alkalmazott tömegspektrométerek általában 0,1 atomi tömegegység-felbontásra képesek. A mérési tartomány alsó értéke 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 mintamennyiség-gel juttathatók be. Ennél rendszerint egy szeptumon keresztül, vákuum alatti fűtött térbe kerül a minta, ahol elpárolog, és egy szűk résen jut át az ionizációs térbe. A kevésbé reprodukálható direkt mintabevitel esetén a 0,001–0,1 mg mennyiségű, kevésbé illékony és hőbomlásra hajlamosabb mintát téglében, zsilipen keresztül juttatják az ionforrásba, ahol elpárolog.

Kromatográfiás 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 folyadék-gáz megkülönböztetés mellett létezik még szuperkritikus folyadék (*fluidum*) kromatográfia (SFC, *supercritical fluid chromatography*) is. Bizonyos fokig az elektroforézisen alapuló elválasztás is idesorolható.

A kromatográfiás eljárásoknak számos változata létezik, amelyek csoportosíthatók például:

- az elválasztandó anyagok és az állófázis közti kölcsönhatás szerinti csoportosítás szerint;
- az állófázis geometriája szempontjából;
- az áramló fázis mozgását előidéző hajtóerő szerint;
- az elválasztás technikai megvalósítása alapján (frontális kromatográfia, kiszorításos kromatográfia, elúciós kromatográfia).

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.

Gázkromatográfia

Gázkromatográfiában 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 oszlopot elhagyó vivőgáz a készülékhez tartozó detektorba kerül. A különböző detektorok jellemző paramétereinek beállítása és vezérlése általában az injektorral és a termosztátszekrénnel közös vezérlőegységről történik. A modern készülékek szinte kivétel nélkül személyi számítógépről vezérelhetők.

A gázkromatográfiás módszer fő meghatározó elemei:

- a vivőgáz (általában a detektortípustól függ),
- az injektálás módja,
- az oszlop típusa.

A fenti jellemzők változtatásával és helyes megválasztásával a gázkromatográfiás készülék sokoldalúan kihasználható.

Új technológiának tekinthető a multidimenzionális kromatográfia. Ennek dimenziói alatt az egymástól független elválasztási műveleteket értjük. Így például egy folyadékkromatográf és egy gázkromatográf sorba kapcsolva kétdimenziós rendszert alkot. A gázkromatográfia legmodernebb módszereinek tekinthető a multidimenzionális gázkromatográfia (MDGC, *multi-dimensional* vagy 2D-GC) és a komprehenzív gázkromatográfia (GCxGC).

Folyadékkromatográfia

A folyadékkromatográfiás eljárásoknál az állófázis és a mozgófázis tekintetében még a gázkromatográfiánál is szélesebb körben válogathatunk a különböző mérési elvek között. A gázkromatográfiával analóg, leggyakrabban alkalmazott elúciós eljárás a nagy nyomású folyadékkromatográfia (HPLC, *high pressure liquid chromatography*). A 2004 utáni években a technológia fejlődésével, kisebb szemcseméretű (körülbelül 1,7 μm) állófázisok és még nagyobb nyomás (1000 bar) alkalmazásával már külön ultrahatékony folyadékkromatográfiáról (UHPLC, *ultra high performance* vagy UPLC, *ultra performance liquid chromatography*) is beszélhetünk.

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 mérhetők folyadékkromatográfiás módszerekkel, amelyek nem kellően illékonnyak a gázkromatográfiás méréshez, vagy érzékenyek a magas hőmérsékletre. A folyadékkromatográfiában a mozgófázis és az állófázis poláris és apoláris jellege is széles tartományban változtatható, ezért az elválasztás hatásfoka is jobban beállítható, mint a gázkromatográfiában, ahol többnyire csak a különböző állófázisok között válogathatunk [127].

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 módszerre a szerves mikroszennyező anyagok vizsgálatának terén. Ha az adott komponens gyorsan és minimális minta-előkészítéssel mérhető valamilyen gázkromatográfiás módszerrel, akkor a GC-t kell előnyben részesíteni, egyéb esetben a HPLC-t.

Minták előkészítése

Mind a kromatográfiás, 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. Röviden a legfontosabb, kromatográfiához kapcsolódó injektálási módszereket is meghatározó minta-előkészítési eljárások a teljesség igénye nélkül:

- statikus gőztérinjektálás (Headspace, HS vagy Static Headspace Extraction, SHE),
- gázsztrippeléses módszerek („purge and trap”, dinamikus gőztérinjektálás/-extrakció, Dynamic Headspace Extraction, DHE).

A kevésbé illékony komponensek extrakciójához használt módszerek:

- Soxhlet-extrakció;
- mikrohullámmal segített extrakció (MAE, *microwave assisted extraction*);
- ultrahanggal segített extrakció (USAE, *ultrasound assisted extraction*);
- gyorsított oldószeres extrakció (ASE, *accelerated solvent extraction*);
- nagy nyomású folyadékextrakció (PLE, *pressurized liquid extraction*);
- nagy nyomású fluidextrakció (PFE, *pressurized fluid extraction*);
- szuperkritikus fluidextrakció (SFE, *supercritical fluid extraction*);
- membránalapú extrakció (ME, *membrane extraction*).

Az egyik talán legkényelmesebb minta-előkészítési (és egyben injektálási) eljárásnak a szilárd fázisú extrakciós (SPE, *solid phase extraction*) eljárás tekinthető. Az ilyen eljárásoknak az általános jellemzője, hogy egy szilárd adszorbenst a vizsgálandó mintába (folyadékba, folyadék gőztérfébe vagy gázba) helyeznek, amelyen az adszorpció révén a vizsgálandó komponensek egyensúlyi folyamatban megkötődnek. Ezután a vizsgálandó anyagokat az adszorbensről termikusan vagy más módszerrel leválasztják, és az eluensbe (gázkromatográf esetén a vivőgázba) juttatják. A szilárd fázisú mikroextrakció (SPME, *solid phase microextraction*) abban különbözik a SPE-től, hogy az SPME kis mennyiségű, egy vékony, tűszerű kvarcszála vagy kapilláris belsőjében rögzített adszorbensen csak a mérendő komponensek egy részét (1–20%) adszorbeálja, de az adszorbeált komponensek teljes mennyiségét a gázkromatográfba juttatja.

Fejezetzáró kérdések

1. Magyarázza meg a vakhatárérték, a kimutatási határ és a meghatározási határ fogalmát!
2. Ismertesse az immunpróbák alapelvét!
3. Milyen elektroanalitikai eljárásokat ismer?
4. Hogyan csoportosíthatók a kromatográfiás módszerek?
5. Hogyan működnek az SPE minta-előkészítő eljárások?