

Xymena Mazur-Badura  
Instytut Nafty i Gazu, Kraków

## Zapewnienie jakości przy oznaczaniu WWA w cząstkach stałych emitowanych z silników wysokoprężnych

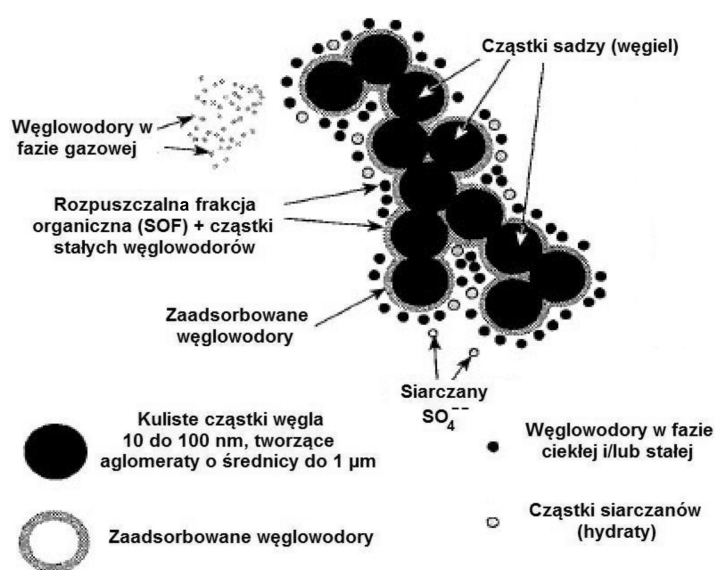
### Wstęp

Występujące w środowisku człowieka wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) pochodzą głównie ze źródeł antropogennych [7]. W aspekcie ogólnego skażenia, ilości WWA pochodzące ze źródeł naturalnych i stanowiące „naturalne tło” są niewielkie w porównaniu z ilościami będącymi wynikiem działalności człowieka. WWA powstają jako produkty uboczne w wielu procesach chemicznych. Zasadniczo każdy proces związany z silnym ogrzewaniem lub niecałkowitym spalaniem związków organicznych może być źródłem emisji WWA – również pozaprzemysłowym (spalarnie odpadów, pożary lasów, spaliny pojazdów mechanicznych). Silniki spalinowe są jednymi z istotnych źródeł skażenia środowiska naturalnego – zwłaszcza w obszarach o wysokiej gęstości zaludnienia, czyli w miastach. Emitowane przez silniki różnorodne związki chemiczne mogą oddziaływać zarówno bezpośrednio na organizm człowieka (tlenek węgla, sadza, węglowodory), jak i pośrednio – wpływając na zmiany klimatyczne poprzez potęgowanie efektu cieplarnianego (tlenek węgla, tlenki azotu).

Jedną z najbardziej niebezpiecznych grup węglowodórów emitowanych podczas pracy silnika spalinowego są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) i ich pochodne. WWA (w literaturze angielskiej – *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* – PAH) określane są czasem mianem *Polynuclear Aromatics* (PNA), *Polycyclic Organic Matter* (POM) lub *Polycyclic Aromatic Compounds* (PAC), jednak nazwy te mogą być mylące; odnoszą się bowiem również do heteroorganicznych pochodnych węglowodórów (produkty nitrowane, związki hydroksylowane itp.).

WWA stanowią stosunkowo liczną grupę związków organicznych zawierających od dwóch do kilku, a nawet kilkunastu pierścieni aromatycznych w cząsteczce. Znanych jest więcej niż sto związków z tej grupy, lecz – z uwagi na ich toksyczność, oddziaływanie na człowieka oraz ilość dostępnych informacji toksykologicznych – najczęściej oznaczanych jest 17 WWA. Są to: acenaften, acenaftylen, antracen, benzo[a]antracen, benzo[a]piren, benzo[e]piren, benzo[b]fluoranten, benzo[j]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[g,h,i]perylen, chryzen, dibenzo[a,h]antracen, fluoranten, fluoren, fenantren, piren i indeno[1,2,3-cd]piren. Związki te, ogólnie uznane za potencjalnie kancerogenne, a w niektórych przypadkach (np. benzo[a]piren) o udowodnionym działaniu rakotwórczym, mogą mieć wybitnie niekorzystny wpływ na człowieka, zwłaszcza że ich najwyższą emisję obserwuje się na terenach miejskich, co zwiększa populację narażoną na ich oddziaływanie. Stwierdzono, że związki te nie występują pojedynczo lecz zawsze w mieszaninie [1]. Najlepiej zbadanym węglowodorem z grupy WWA jest benzo[a]piren, który – ze względu na siłę działania rakotwórczego oraz powszechność występowania w środowisku – uznany został za wskaźnik zagrożenia stwarzanego przez całą grupę tych związków.

W ostatnich latach potwierdzono bardzo szerokie spektrum zagrożeń dla zdrowia człowieka wynikające z wdychania cząstek stałych. Cząstki sadzy, po zaadsorbowaniu produktów niepełnego spalania paliwa oraz oleju silnikowego (których znaczna ilość wykazuje działanie rakotwórcze), stają się dla środowiska szczególnie groźnym zanieczyszczeniem (rysunek 1). Ze względu na niewielkie



Rys. 1. Schemat budowy cząstek stałych (PM) emitowanych z silników wysokoprężnych

wymiary cząstek, mogą one wnikać do pęcherzyków płucnych – doprowadzając do stanów zapalnych oraz uszkodzeń komórek. Cząstki stałe wykazują działanie mutagenne oraz kancerogenne; stąd ekspozycja na nie organizmu ludzkiego związana jest z ryzykiem wystąpienia wielu schorzeń układu oddechowego i zaburzeń układu vegetatywnego, czy też układu krążenia.

Przy ocenie wpływu cząstek stałych na zdrowie człowieka należy brać pod uwagę następujące cząstki: wymiary cząstek i ich ilość w odniesieniu do klas wielkości, powierzchnię cząstek i jej morfologię, a także skład chemiczny, w którym należy uwzględnić WWA [6]. Szczególne zainteresowanie naukowców wzbudzają związki zawierające powyżej czterech skondensowanych pierścieni aromatycznych, ponieważ większość z nich wykazuje działanie rakotwórcze, a zatem ich obecność w PM stwarza duże zagrożenie.

Tablica 2. Klasyfikacja WWA i niektórych substancji zawierających te związki ze względu na prawdopodobieństwo działania rakotwórczego, według IARC [2]

Uznany kancerogen GRUPA 1	Prawdopodobny kancerogen GRUPA 2A	Możliwy kancerogen GRUPA 2B
Pak węglowy Smoła węglowa Dymy koksownicze Oleje mineralne Oleje łupkowe Sadze Dymy tytoniowe	benzo[a]antracen <b>benzo[a]piren</b> oleje kreozytowe dibenzo[a,h]antracen	benzo[b]fluoranten benzo[j]fluoranten benzo[k]fluoranten ekstrakt sadzy dibenzo[a,e]piren dibenzo[a,h]piren dibenzo[a,i]piren dibenzo[a,l]piren indeno[1,2,3-c,d]piren 5-metylochryzen dibenzo[a,j]antracen h-dibenzo[c,g]karbazol

### Stosowana metodyka oznaczania WWA

Wszystkie WWA powinny być traktowane jako potencjalnie rakotwórcze, zatem pomiary należy prowadzić tak, aby uniknąć kontaktu z ciałem WWA w formie stałej, ekstraktu lub roztworu. WWA są zdolne do współdestylowania z rozpuszczalnikiem, mogą też przywierać do zewnętrznej powierzchni naczyń szklanych z doszlifowa-

Względna siła działania mutagennego poszczególnych WWA jest zróżnicowana (tablica 1).

Tablica 1. Względna siła działania mutagennego poszczególnych WWA [6]

Nazwa związku	Aktywność rakotwórcza	Aktywność mutagenna
Dibenzo[a,h]antracen	1,110	0,47
<b>Benzo[a]piren – B[a]P</b>	1,000	1,00
Antantren	0,320	0,06
Indeno[1,2,3-c,d]piren	0,232	0,14
Benzo[a]antracen	0,145	0,62
Benzo[a]fluoranten	0,141	0,20
Benzo[k]fluoranten	0,066	-
Benzo[j]fluoranten	0,061	-
Piren	0,081	0,20
Cyklopentadieno[c,d]piren	0,023	0,26
Benzo[g,h,i]perylene	0,022	0,08
Chryzen	0,004	0,37
Benzo[e]piren	0,004	0,42

Istnieją wystarczające dane eksperymentalne, które świadczą o tym, że benzo[a]piren ma właściwości mutagenne – związek ten wykazuje również działanie embriotoksyczne i teratogenne [1]. Klasyfikację zagrożeń stwarzanych przez WWA, według IARC (1983), przedstawiono w tablicy 2.

wanymi korkami szklanymi. Z powodu szczególnego ryzyka związanego z pracą z WWA w formie stałej, nie jest zalecane samodzielne przygotowywanie roztworów wzorcowych, tylko zastosowanie roztworów wzorcowych dostępnych w handlu, minimalizujących ryzyko kontaktu z tymi kancerogenami. Cały osprzęt szklany zawierający

roztwory WWA powinno się obsługiwać w rękawiczkach odpornych na rozpuszczalniki. Ślady WWA można wykryć obserwując ich fluorescencję pod wpływem oświetlenia lampą kwarcową.

Etapy oznaczenia WWA w PM emitowanych z silnika Diesla obejmują:

1. **Przygotowanie próbek**

a) *pobór próbki PM z silnika wysokoprężnego*

W Instytucie Nafty i Gazu do poboru próbek PM wykorzystuje się analizator Smart Sampler SPC firmy AVL; jest to zintegrowany system pomiaru emisji cząstek stałych o częściowym przepływie spalin, tzw. „minitunel”. Rozcieńczone powietrzem gazy spalinowe są filtrowane przez specjalny pakiet filtrów, na którym zostają zebrane cząstki stałe (PM). Zastosowanie wyspecjalizowanego programu komputerowego umożliwia interpretację sygnałów z odpowiednich mierników przepływu i określenie ilości spalin przepływających przez tunel rozcieńczający.

b) *ekstrakcja próbki PM zebranych na sączkach – wydzielenie SOF*

Etap wydzielenia SOF (organicznej frakcji rozpuszczalnej, zawierającej także frakcję aromatyczną z WWA) z PM może być przeprowadzany z zastosowaniem ekstrakcji rozpuszczalnikowej. Najpowszechniej wykorzystywaną metodą jest ekstrahowanie sączka z PM w aparacie Soxhleta. Ekstrakcja SOF, po umieszczeniu sączka z zebranymi w minitunelu PM, odbywa się cyklicznie – świeżymi, ogrzewanymi do wrzenia porcjami dichlorometanu (rozpuszczalnik ten jest także zalecany w procedurze przedstawionej w normie IP 443).

c) *oczyszczanie SOF – wydzielenie frakcji zawierającej WWA*

W SOF obecne są śladowe ilości WWA i z tego względu konieczne jest zastosowanie selektywnych metod ich



Rys. 2. Zestaw stosowany w technice SPE

wydzielania i zateżenia – np. SPE (*solid-phase extraction*). Technika SPE (zestaw przedstawiony na rysunku 2) umożliwia wydzielenie z ekstraktu SOF frakcji zawierającej WWA i oddzielenie jej od matrycy (zawierającej substancje interferujące, m.in. węglowodory) z frakcji olejowych, co odbywa się podczas przepuszczania próbki SOF przez złożę sorbentu umieszczone w polipropylenowych kolumnkach. Jako sorbent stosuje się zwykle modyfikowane żele krzemionkowe, o dużej selektywności w stosunku do analitu. Po zagęszczeniu na sorbencie frakcja zawierająca WWA jest z niego wymywana odpowiednio dobranym rozpuszczalnikiem.

d) *zateżenie wydzielonych WWA*

Stężenia analitów wydzielonych z próbki opisanymi wyżej sposobami są niewystarczające do zastosowania technik analizy instrumentalnej i konieczne jest ich zateżenie w ekstrakcie do poziomu powyżej granicy oznaczalności stosowanej metody. Przy odparowywaniu lekkich rozpuszczalników szerokie zastosowanie znalazły aparaty Kuderny-Danish (rysunek 3), gdyż umożliwiają one bezpieczniejsze odparowywanie niż wyparki rotacyjne, w których w czasie destylacji może dojść do strat analitu. Zestawy te wyposażone są w cechowany odbieralnik, mikrokolumnę Snydera, kolbę i urządzenie do odzysku rozpuszczalnika.



Rys. 3. Aparat Kuderny-Danish

2. **Analiza instrumentalna próbek**

Do rozdzielania i ilościowego oznaczania WWA powszechnie stosuje się techniki chromatograficzne, a w szczególności chromatografią gazową sprzężoną ze spektrometrią masową (GC/MS). Takie połączenie technik sprawia, że dzięki bardzo dużej czułości i niskiej granicy wykrywalności, GC/MS zajmuje szczególne miejsce w identyfikacji i oznaczaniu WWA. W Instytucie Nafty i Gazu do analizy WWA wykorzystuje się chromatograf gazowy Clarus 500 firmy PerkinElmer (maks. temp. termostatu 450°C) z dozownikiem *split/splitless* (temp. 50÷450°C) oraz z programowalnym sterownikiem pneumatycznym (PPC – *Programmable Pneumatic Control*). Chromatograf ten sprzężony jest ze spektrometrem masowym Clarus 560D (temp. linii transferowej 50÷350°C), wykorzystującym jonizację elektronową (żarnik renowy, 120÷350°C, zakres energii jonizacji źródła: 10÷100 eV),



wyposażonym w kwadrupolowy analizator mas i – jako detektor – fotopowielacz. Zakres mas podlegających detekcji to od 1,0 do 1200 daltonów (amu), a rozdzielczość detektora wynosi 0,1 amu.

Poprawna identyfikacja analitów na chromatogramie jest oparta na:

- względnych czasach retencji, które powinny odpowiednio leżeć w zakresie  $\pm 3\%$  oczekiwanej wartości względnego czasu retencji oznaczanego analitu,
- stosunku intensywności jonów jakościowych do jonu podstawowego, który powinien leżeć w zakresie  $\pm 30\%$  od wartości spodziewanej.

Wzorcowanie w celu przeprowadzenia oznaczeń ilościowych WWA odbywa się z wykorzystaniem dostępnych w handlu gotowych mieszanin wzorców WWA i wzorców

deuterowanych. Stężenia analitów w ekstraktach są obliczane z równania [3]:

$$m_{ai} = \frac{m_{is,j}}{R_{RF,i,j}} \cdot \frac{A_{ai}}{A_{is,j}}$$

w którym:

$m_{ai}$  – masa analitu  $i$  w ekstrakcie z próbki,

$m_{is,j}$  – masa odpowiedniego wzorca wewnętrznego  $j$ , dodanego do próbki,

$R_{RF,i,j}$  – współczynniki odpowiedzi analitu  $i$ , względem odpowiadającego wzorca zewnętrznego  $j$ ,

$A_{ai}$  – powierzchnia pików jonu podstawowego analitu  $i$  w ekstrakcie z próbki,

$A_{is,j}$  – powierzchnia pików jonu podstawowego wzorca wewnętrznego  $j$  w ekstrakcie z próbki.

### Elementy walidacji metody

Walidacja – zgodnie z normą ISO 17025 [5] – jest potwierdzeniem, przez sprawdzenie i dostarczenie obiektywnego dowodu, że spełnione zostały szczególne wymagania dotyczące określonego, zamierzonego zastosowania metody pomiarowej. Zatem w celu zapewnienia odpowiedniej jakości wyników oznaczeń WWA w PM przeprowadzono badania przydatności stosowanej metodyki oznaczania.

Walidacja każdej metody analitycznej ma na celu upewnienie się, czy uzyskiwane wyniki mieszczą się w obszarze akceptowanej niepewności, a zakres walidacji jest zależny przede wszystkim od powszechności jej stosowania. W przypadku prezentowanej metodyki analitycznej, ze względu na jej wewnętrzne stosowanie, walidację prowadzono w zawężonym zakresie, jednakże i w takim przypadku dla prawidłowej oceny źródeł niepewności, mających wpływ na niepewność uzyskiwanych wyników, niezbędna jest dokładna znajomość wszystkich operacji wykonywanych w trakcie pomiaru.

Uważa się, że laboratorium powinno przeprowadzać walidację:

- metod nieznormalizowanych,
- metod opracowanych w laboratorium,
- metod znormalizowanych stosowanych poza ich zakresem,
- udoskonalień metod znormalizowanych.

Techniki stosowane przy walidacji metody to:

- wzorcowanie przy wykorzystaniu wzorców lub materiałów odniesienia,
- porównanie wyników uzyskanych różnymi metodami,
- porównania międzylaboratoryjne,
- systematyczna ocena czynników wpływających na wynik,

- ocena niepewności wyników, oparta na naukowym rozumieniu teoretycznych podstaw metody i doświadczeniu praktycznym.

Przy szacowaniu niepewności metody pomiarowej stosuje się model pomiarowy odpowiadający faktycznej zależności funkcyjnej ilości poszczególnych analitów, od wartości mierzonych. W przypadku WWA, ich stężenia obliczane są na podstawie znajomości powierzchni pików chromatograficznych jonów podstawowych w badanej próbce i w stosowanym wzorcu wewnętrznym. Podstawowe źródła niepewności tego rodzaju oznaczeń związane są głównie z operacjami pobierania próbki, czy też przygotowania jej do oznaczenia chromatograficznego, a nie z końcowym etapem analizy instrumentalnej. Sporządzenie rzeczywistego modelu pomiarowego, uwzględniającego wszystkie czynniki wpływające na niepewność oznaczenia WWA w PM, praktycznie nie jest możliwe, ze względu na złożoność obserwowanych oddziaływań; zarówno w silniku, jak i podczas pobierania PM do analizy, czy też przy kolejnych operacjach analitycznych. Na każdym etapie oznaczenia można wytypować kilka najważniejszych czynników mających wpływ na niepewność metody (tablica 3). Największy wkład w wartość niepewności złożonej oznaczania WWA w PM daje etap poboru próbki PM, z uwagi na ograniczenia w możliwości uzyskania w pełni powtarzalnych warunków pracy silnika. Procesy wydzielania SOF i zateżania WWA wnoszą mniejszy wkład, natomiast w przypadku przechowywania próbek PM i ich ekstraktów, szczególnego nadzoru wymaga możliwość negatywnego wpływu warunków środowiska (tlen, oświetlenie) na uzyskiwane wyniki oznaczeń WWA.

Tablica 3. Źródła niepewności pomiaru zawartości WWA wydzielanych z PM

Operacja	Źródła niepewności
Emisja z silnika	– Niepowtarzalna praca silnika
Pobór próbki PM	– Sorpcja PM na ściankach tunelu – Stopień rozcieńczenia spalin powietrzem – Czystość rozcieńczającego powietrza – Warunki i czas przechowywania filtra z PM – Niepewność pomiaru masy PM
Ekstrakcja SOF	– Niepełna ekstrakcja – Trwała sorpcja analitu na sadzy – Straty analitu podczas destylacji – Degradacja analitu (światło)
SPE/zateżanie	– Niepełna sorpcja analitu – Niepełne wymycie analitu – Czystość rozpuszczalników – Czystość związków deuterowanych – Niepewność pomiaru objętości
GC/MS	– Niepewność odczytu powierzchni pików analitu – Niepewność wprowadzanej objętości próbki

W związku z tym, że zarówno ilości zbieranych PM, jak i zabsorbowanych na nich WWA są niezmiernie małe, podczas pracy laboratoryjnej, w celu uzyskania wiarygodnych i powtarzalnych wyników niezbędne jest przestrzeganie wielu specjalnych zasad:

- próbki zawierające WWA należy przechowywać w zamkniętych pojemnikach, zabezpieczonych przed dostępem światła. Filtry z PM przed ekstrakcją przechowuje się w temperaturze poniżej  $-15^{\circ}\text{C}$ , lecz nie dłużej niż 1 miesiąc. Fiolki z ekstraktami z PM należy przechowywać w temperaturach od  $0$  do  $4^{\circ}\text{C}$ , również nie dłużej niż 1 miesiąc,
- wzorce kalibracyjne powinny być analizowane po każdym dziesięciu próbkach w serii pomiarowej. Ślepe próby laboratoryjne należy pobierać i analizować w każdej serii pomiarów emisji,
- odzyski wzorców wewnętrznych powinny mieścić się w zakresie  $50 \pm 150\%$ . Wyniki oznaczeń WWA w próbkach, dla których odzyski wzorców wewnętrznych są mniejsze niż  $50\%$  lub większe niż  $150\%$  należy odrzucić, a pomiary powtórzyć,
- około  $10\%$  ekstraktów z próbek powinno być przedmiotem podwójnych oznaczeń, w celu upewnienia się o uzyskiwaniu akceptowalnej precyzji analitycznej,
- dla upewnienia się o akceptowalnej dokładności analitycznej powinno się także przeprowadzać okresowe oznaczenie standardowego materiału odniesienia, o certyfikowanych zawartościach PAH,
- interferencje – związane z zanieczyszczeniami obecnymi w rozpuszczalnikach, odczynnikach lub na sto-

sowanych naczyniach szklanych i innym wyposażeniu – powinny powodować artefakty i/lub podnoszenie linii bazowej w profilach detektora. Układ analityczny i odczynniki należy rutynowo sprawdzać, dla stwierdzenia, że są one wolne od zanieczyszczeń,

- przyczyną interferencji związanej z matrycą próbki mogą być substancje współekstrahowane z próbką. Jeżeli wykrywane są istotne interferencje (np. pojawiają się nieakceptowalne stosunki jonów), wówczas powinna być przeprowadzona dodatkowa procedura oczyszczająca próbkę przed analizą instrumentalną, wykorzystująca chromatografię kolumnową.

Walidację opracowanej procedury oznaczania WWA w PM rozpoczęto od wyznaczenia granicy oznaczalności metody. Granica oznaczalności metody jest to najmniejsze stężenie analitu, które

może być oznaczone z akceptowalnym poziomem precyzji i dokładności. Granica ta jest także definiowana jako wielkość stężenia analitu średnio wykrywanego w ślepych próbach, plus od 5 do 10 odchyłeń standardowych wyznaczonych dla ślepych prób. Na podstawie wyników analiz ślepych prób możliwe jest także określenie granicy wykrywalności, a jest to najmniejsza zawartość analitu, która może być zmierzona z zadowalającą pewnością statystyczną. Granica ta jest także definiowana jako średnie stężenie analitu wykrywane w ślepych próbach, plus najczęściej 3 odchylenia standardowe dla ślepych prób. W przypadku obu granic, odchylenie standardowe wyznacza się w warunkach powtarzalności.

Tablica 4. Zestawienie wyników oznaczeń jednego przedstawiciela WWA w ślepej próbce

Nr próby	Wyznaczone stężenie [ng/μl]	Odchylenie standardowe, $s_x$ [ng/μl]	Granica oznaczalności [ng/μl]
1	0,008	0,00396	0,024
2	0,009		
3	0,003		
4	0,014		
5	0,010		

W celu wyznaczenia granicy oznaczalności zarejestrowano chromatogramy ślepych prób, uzyskanych poprzez przeprowadzenie całego procesu analitycznego dla czystych sączków, nie zawierających PM. Proces ten powtarzano pięciokrotnie, a wyniki zebrano w tablicy 4.

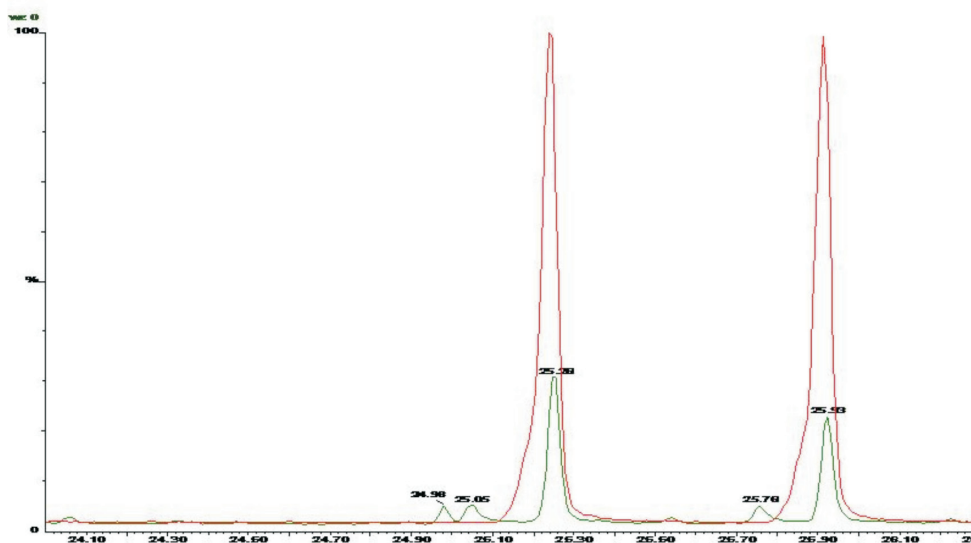
W celu sprawdzenia obliczonej wartości oznaczalności WWA, sporządzono mieszaninę wzorcową WWA o stężeniu odpowiadającemu granicy oznaczalności, zarejestrowano chromatogram i nałożono go z przykładowym chromatogramem ślepej próby (rysunek 4).

W kolejnym etapie walidacji metody oznaczania WWA sprawdzono zakres stosowania metody i jej liniowość. Liniowość to zdolność metody pomiarowej do dostarczania wyników proporcjonalnych do wartości

wielkości mierzonej. Zakres liniowości to zakres wartości mierzonej, wewnątrz którego metoda dostarcza wyników proporcjonalnych do wartości wielkości mierzonej. Ocena liniowości jest narzędziem planowania wzorcowania wykonywanego w czasie stosowania metody. W zakresie liniowości metody, jeden punkt wzorcowania może być wystarczający do weryfikacji nachylenia krzywej wzorcowej. Do oceny liniowości służą parametry zależności: wynik-wartość mierzona (np. współczynnik regresji liniowej).

W celu sprawdzenia zakresu stosowania metody i jej liniowości, dla pięciu poziomów stężeń: 0,025; 0,073; 0,125; 0,551 i 1,00 ng/μl sporządzono serię roztworów wzorcowych, zawierających: wzorzec PAH Mix 45 (handlowa mieszanina wzorców WWA), koronen, wzorce deuterowanych WWA (Chryzen D12, Perylen D12, benzo[g,h,i]perylen D12) i wzorzec strzykawkowy (2,2' – dibromobifenyl). Następnie, dla roztworów tych oraz dla ślepej próby zarejestrowano chromatogramy. Na rysunku 5 przedstawiono dwie przykładowe krzywe wzorcowe dla benzo[a]pirenu i chryzenu. Współczynnik korelacji zbliżony do jedności potwierdza liniowość metody w zakresie 0,025÷1 ng/μl.

Oceniono także powtarzalność wyników pomiarów, czyli stopień zgodności wyników kolejnych pomiarów tej samej wielkości, wykonanych w tych samych warunkach pomiarowych.

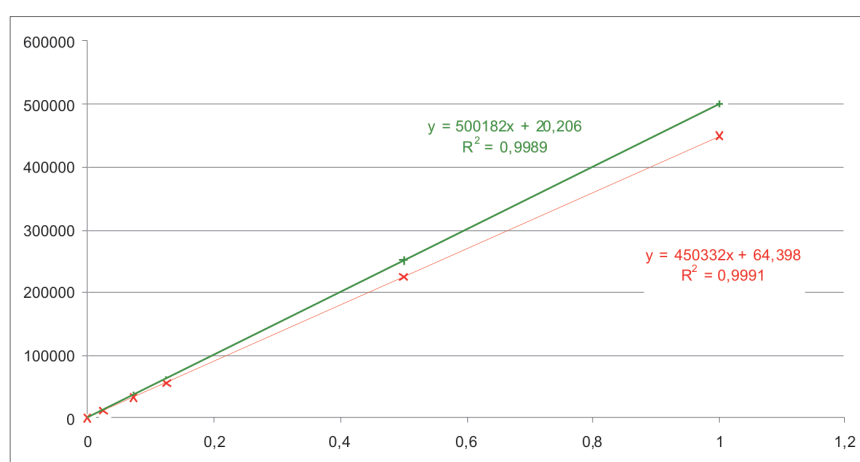


Rys. 4. Fragment chromatogramu ślepej próby (zielony) oraz mieszaniny wzorcowej WWA o stężeniu odpowiadającemu granicy oznaczalności

Warunki powtarzalności obejmują:

- tę samą procedurę pomiarową,
- tego samego analytyka,
- ten sam przyrząd pomiarowy, stosowany w tych samych warunkach,
- to samo miejsce,
- powtarzanie pomiarów w krótkich odstępach czasu.

Miarą powtarzalności metody jest odchylenie standardowe powtarzalności ( $s_x$ ); jest ono wyznaczane na podstawie wyników niezależnych powtórzeń pomiarów tego samego obiektu lub – w przypadku badań niszczących – obiektów o możliwie zbliżonych właściwościach. Jeżeli metoda jest



Rys. 5. Krzywe wzorcowe: dla benzo[a]pirenu (czerwona) i chryzenu (zielona)

stosowana do próbek o zdecydowanie różnych właściwościach, wówczas konieczne może być określenie powtarzalności dla różnych poziomów stężeń analyty. Powszechnie stosowaną wartością powtarzalności metody ( $r$ ) jest liczba,

której z prawdopodobieństwem 95% nie przekracza bezwzględna różnica pomiędzy dwoma wynikami badania uzyskanymi w warunkach powtarzalności; zgodnie z normą ASTM E 177 [4] jest ona równa  $r = 2,8 \times s_r$ .

Jeżeli w metodzie występuje etap wyodrębniania analitu z matrycy, należy określić jaka jest skuteczność tego wydzielenia, czyli odzysk. Ponieważ zazwyczaj nie wiadomo ile określonego analitu znajduje się w próbce, trudno określić jak skuteczna jest zastosowana metoda jego wyodrębniania. W celu określenia skuteczności ekstrakcji stosowane są różne sposoby postępowania, wykorzystujące:

- certyfikowane materiały odniesienia (niekiedy znaczone izotopowo),
- materiały przygotowane przez dodanie do matrycy określonej ilości analitu; w tym przypadku dodatkowo wprowadzony analit może jednak nie być tak silnie związany z matrycą (PM) jak realna próbka, co może prowadzić do pewnego zawyżenia współczynnika odzysku.

W celu wyznaczenia wskazanych wyżej parametrów, opracowanej procedurze analitycznej oznaczania WWA poddano materiał referencyjny PM (SRM1650b), zawierający 45 WWA – w stężeniach typowych dla spotykanych w próbkach zanieczyszczeń środowiskowych. Przykładowo, w tabelicy 5 zebrano wyniki oznaczonych stężeń benzo[a]pirenu i chryzenu (nominalna zawartość B[a]P wynosiła  $1,17 \pm 0,09$  mg/kg, a chryzenu  $13,3 \pm 1,1$  mg/kg), wyznaczono granicę powtarzalności i odzysk. Naważki PM analizowano na trzech poziomach wagowych.

Przedstawione wyniki pozwalają wnioskować, że optymalna ilość PM wykorzystywana w analizie mieści się w granicach 2÷3 mg, co odpowiada np. ilości B[a]P równej około  $3 \pm 1$  ng. W przypadku mniejszych ilości próbki obserwuje się pewien wpływ zanieczyszczeń środowiskowych, skutkujący podwyższeniem odzysku, natomiast zwiększenie masy zbieranych PM może wymagać wydłużenia czasu procesu ekstrakcji – co nie jest korzystne, ze względu na wspomnianą wyżej niestabilność wydzielanych substancji. Należy tu jednak dodać, że w przypadku analiz śladowych na takich poziomach stężeń, podane wartości odzysku można uznać za zadowalające.

Kolejnym ważnym elementem walidacji metody było określenie jej selektywności i wpływu matrycy na wyniki oznaczeń. Selektywność to zdolność metody do oznaczania określonego analitu w obecności innych składników matrycy próbki, w danych warunkach badania. Selektywność danej metody określa się na podstawie wyników oznaczania próbek zawierających różne składniki, podejrzane o wpływ na pomiar zawartości danego analitu. Ocena wyników polega na określeniu, w jakim stopniu substancje obecne w badanej próbce wpływają na oznaczenie mierzonej wielkości. Obecność interferentów może zmniejszać lub zwiększać wynik oznaczenia. Klasyczna chromatografia gazowa jest techniką stosunkowo mało precyzyjną, natomiast jej sprzężenie z detekcją mas umożliwi selektywne oznaczanie WWA, co sprawdzono badając wpływ matrycy na wyniki oznaczania składu materiału referencyjnego SOF (SRM1975), zawierającego 30 związków

aromatycznych o różnej liczbie skondensowanych pierścieni; poczynając od fenantrenu, a kończąc na koronie. Stwierdzono, że zastosowanie trybu analizy rejestrującej wybrany, pojedynczy jon fragmentaryczny (SIR) w wielu przypadkach eliminuje konieczność stosowania procedury oczyszczania matrycy za pomocą ekstrakcji do fazy stałej (SPE).

Tabela 5. Wyniki analizy materiału referencyjnego dla benzo[a]pirenu i chryzenu

Masa naważki PM [mg]	Stężenie B[a]P [mg/kg]	$s_x$	$r$	Odzysk [%]	Stężenie chryzenu [mg/kg]	$s_x$	$r$	Odzysk [%]
1,032	1,52	0,130	0,36	130	14,1	0,65	1,82	111
1,055	1,65				14,9			
1,044	1,41				15,4			
2,518	1,25	0,110	0,31	107	13,8	0,47	1,32	100
2,578	1,15				13,1			
2,540	1,37				12,9			
3,517	1,03	0,042	0,12	92	12,3	0,45	1,26	96
3,524	1,11				12,8			
3,536	1,05				13,23			

### Podsumowanie

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że opracowana metodyka oznaczania zawartości WWA

w cząstkach stałych (PM) emitowanych z silnika wysokoprężnego daje akceptowalne wyniki przy wykorzystaniu



zebranych na filtrze PM w ilości kilku miligramów. Przeprowadzone badania materiałów referencyjnych próbek PM uzyskiwanych w trakcie ustandaryzowanych testów emisji potwierdziły, że odzysk WWA uzyskuje się na poziomie od 90 do 130%, co w przypadku śladowych ilości analitów

można uznać za zadowalające. Jako szczególnie ważne elementy, zapewniające uzyskanie wiarygodnych wyników badań, uznano zapewnienie odpowiednich warunków poboru próbek i ich przechowywania przed rozpoczęciem etapów ekstrakcji i zateżnienia analitów.

Artykuł nadesłano do Redakcji 24.09.2010 r. Przyjęto do druku 11.10.2010 r.

Recenzent: dr Michał Krasodomski

## Literatura

- [1] Bilek M.: WWA – *Wielopierścieniowe Węglowodory Aromatyczne*, [http://www.wsse.krakow.pl/Files/Attachments/phpObN8Xl\\_WWA.doc](http://www.wsse.krakow.pl/Files/Attachments/phpObN8Xl_WWA.doc)
- [2] International Agency for Research on Cancer; Complete List of Agents evaluated and their classification, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>
- [3] ISO 11338-2 – *Stationary Source Emission – Determination of Gas and Particle Phase Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – Part 2*.
- [4] Norma ASTM E 177 *Standard Practice for Use of the Terms Precision and Bias In ASTM Test Methods*.
- [5] PN-EN ISO/IEC 17025:2001 *Ogólne wymagania dotyczące laboratoriów badawczych i wzorcujących*.
- [6] Sapota A.: *WWA – Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego*. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, R. 18, nr 2(32), s. 179–208, 2002.
- [7] Smolik E.: *Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA)*, [www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materialy\\_szkoleniowe/Szkol2/10-smolik.pdf](http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol2/10-smolik.pdf)



Mgr Xymena MAZUR-BADURA – absolwentka Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Asystent w Zakładzie Analiz Naftowych Pionu Technologii Nafty INiG. Zajmuje się realizacją prac naukowo-badawczych z zakresu mikroanalizy chemicznej.

## Oferta



INSTYTUT NAFTY I GAZU

### ZAKŁAD ANALIZ NAFTOWYCH (TA)

Kierownik: dr inż. Beata Altkorn

31-429 Kraków, ul. Łukasiewicza 1  
tel.: +48 12 617 76 00  
fax: +48 12 617 76 80, +48 12 617 75 22  
e-mail: beata.altkorn@inig.pl

#### Zakres działania:

- kompleksowa analiza rop naftowych;
- usługi:
  - pobieranie próbek produktów naftowych, LPG, biokomponentów i biopaliw,
  - monitorowanie jakości paliw ciekłych i biopaliw,
  - monitorowanie jakości LPG,
  - monitorowanie stopnia zużycia olejów silnikowych w pojazdach;
- badanie składu chemicznego i ocena jakości produktów naftowych, biokomponentów, biopaliw, paliw alternatywnych;
- usługi eksperckie i rzeczoznawcze w zakresie: orzecznictwa o jakości paliw silnikowych, analityki produktów naftowych, metod pobierania próbek produktów naftowych, biokomponentów, biopaliw i LPG, nielegalnego procederu przerobu znakowanego oleju opałowego, problemów związanych z eksploatacją produktów naftowych i produktów pokrewnych;
- ocena potencjalnej kancerogenności produktów naftowych, w tym test DAB-10;
- oznaczanie metali ciężkich w produktach naftowych świeżych i zużytych oraz w odpadach;
- identyfikacja substancji pochodzących z degradacji produktów naftowych;
- opracowywanie nowych metod analitycznych dla produktów naftowych i pokrewnych: świeżych, w eksploatacji i zużytych;
- identyfikacja i oznaczanie toksycznych związków emitowanych z silników wysokoprężnych (WWA w cząstkach stałych PM);
- badania i doradztwo w zakresie klasyfikacji surowców i produktów naftowych w odniesieniu do Nomenklatury Scalonej (CN);
- wytwarzanie testerów do jakościowego oznaczania obecności znacznika Solvent Yellow 124 w paliwie.

INSTYTUT NAFTY I GAZU

ul. Lubicz 25A, 31-503 Kraków  
tel.: +48 12 421 00 33 fax: +48 12 430 38 85  
[www.inig.pl](http://www.inig.pl) office@inig.pl

KRS 0000075478, REGON 000023136, NIP 675-000-12-77