

Analitikai kémiai módszerek

Analitikai kémia tárgya

Az analitikai kémia az anyagok **minőségi és mennyiségi** elemzésének módszereit, és az eredmények megbízhatóságát tárgyalja.

Környezetvédelemben csak a **validált**, mennyiségi és minőségi jellemzőket egyaránt megadó, **akreditált** elemzési módszereknek van teljes értéke, amik a **jogi** eljárásokban is megállják helyüket.

A környezetvédelmi analitika problémája rendszerint nem az, hogy a vizsgált komponensek koncentrációja nem éri el a műszer kimutatási határát, hanem, hogy a zavaró komponensek elfedik a keresett komponens jelét.

Környezetvédelemben a mérendő komponensek kiválasztását **több szempont** határozza meg:

- Komponensek **mérgező** hatása,
Komponensek előfordulása és **koncentrációja**,
Mérendő közeg és **környezete**,
- Mérendő komponensek előfordulásának gyakorisága
Komponensek **mérhetősége**.

A fenti szempontok között talált **kompromisszum** határozza meg a végzendő méréseket.

A környezetvédelmi analitikát többféle szempontból lehet **felosztani**:

- Mérések **gyakorisága** szerint: **rendszeres** mérések, **eseti** mérések.
- **Komponensek** szerint: komponensek **elkülönült** mérése, komponensek **csoportjára** vagy összegére jellemző adatok.
- Mérés **helye** szerint: **helyszíni** (terepi) mérések, **laboratóriumi** mérések.
- Mérendő komponensek **koncentrációja** szerint: **makrokomponensek**, **nyomelemek**.
- Alkalmazott **mérési módszer** szerint: klasszikus, elektoranalitikai, molekulaszpektroszkópiái, kromatográfiai, atomspektroszkópi, és biológiai alapú tesztek.

Egy környezetanalitikai elemzés folyamata:

Mintázás

Mintázás szempontjai:

- **Reprezentatív** legyen,
- Vegye figyelembe a vizsgálandó **közeget** és a vizsgálandó **anyagot**,
- Könnyen, gyorsan **jól reprodukálhatóan** végrehajtható módszer legyen,
- A mintázás a megfelelő **helyen** és **időben** történjen,
- Ne okozzon kárt, és **biztonságosan** lehessen végrehajtani.

A mintázáskor elkövetett hibák később nem helyesbíthetők.

Az elemzés egész folyamata alatt és különösen a mintavételnél, ügyelni kell, hogy a minta **ne torzuljon**, ne legyen sem mintaveszteség, sem keresztzennyezés. A fentiek miatt elengedhetetlenek a **vakminták**, és a **kísérőstandardok** (surrogate) alkalmazása.

A minták **változatlanságát** meg kell őrizni a szállításuk alatt (pl. pH, hűtés, megfelelő edény stb.) mindaddig, amíg minta-előkészítésük vagy mérésük el nem kezdődik.

A nem konzerválható paramétereket (pH, oldott oxigén, zavarosság stb.) helyszínen kell mérni.

Minta-előkészítés

A környezeti minták gyakran nem mérhetőek közvetlenül. A mintákat gyakran, **koncentrálni, tisztítani, oldószerüket megváltoztatni**, és a komponenseket analízishez **átalakítani** (származékképzés) kell. A makrokomponensek méréséhez nem mindig szükséges minta-előkészítés, de a nyomelemzéseknél (ppm-ppt) majdnem minden esetben.

Gáz és könnyen gőzzé alakítható minták

Illékony komponenseket a minta légteréből (head-space) elemzésével mérhetjük. A paraméterek jól reprodukálhatósága (hőmérséklet, sótartalom, térfogat stb.) fontos követelmény.

A nyomnyi mennyiségű illékony összetevőket adszorbensen kell koncentrálni, amiről gyors lefűtéssel, vagy oldószeres extrahálással nyerjük ki a mintát (purge and trap).

Folyadék minták

Folyadék-folyadék extrahálás

A vízzel nem elegyedő folyadék-folyadék extrahálás gyors, egyszerű, mérsékelten szelektív módszer a vizsgálandó komponensek kivonására vizes közegből.

$$K_d = C_{org}/C_{aqu}$$

Ahol: K_d , megoszlási állandó; c_{org} , komponens koncentrációja szerves fázisban; C_{aqu} , komponens koncentrációja vizes fázisban.

$$E = K_d V / (1 + K_d V)$$

Ahol: E, extrahálási arány; V, fázisarány (org/aqu).

Az extrahálás után az oldószeret betöményítjük, vagy teljesen elpárooljuk. 10^3 - 10^6 nagyságú koncentrálásra és a mintához képest nagy polaritású komponensek eltávolítására alkalmas módszer.

Általában többszöri ismétlést, és a vizes mintánál kisebb térfogatú szerves fázist (1/5-1/100) alkalmazunk.

A leggyakrabban alkalmazott folyadék-folyadék extrakciós eszköz a rázótolcsér

Szilárd fázisú extrahálás (SPE)

A szilárd fázisú extrakciónál a minta oldatát előkezelt szilárd, oszlopba töltött adszorberre öntjük. Az adszorber a minta molekuláit visszatartja, de sok szennyező komponenst átenged.

A minta szempontjából erősebb oldószerrel a mintát lemossuk az adszorberről.

Az SPE lépése:

- A mintafelvétel előtt a szilárdfázisú adszorbert **kondicionálni** kell.
- A vizes mintát **ráöntjük** az előkezelt adszorberre, és vákuummal leszívátjuk az oldószeret.
- Egyes mátrixkomponenseket oldószer adagolással **lemossuk** az oszlopról.
- A mintát a megfelelő oldószerrel **leoldjuk** az oszlopról és betöményítjük. A leoldás lehet többlépcsős is, ekkor egyes analizálandó komponenseket eltérő frakcióban nyerjük. Egyes zavaró erősen kötődő komponensek a minta leoldása után is az oszlopon maradnak.
- Frakciókat **betöményítjük**, vagy az eluent teljesen elpárooljuk.

Az SPE 10^3 - 10^9 nagyságú koncentrálásra alkalmas módszer. A keresett komponensekhez képest kis polaritás különbségű komponensek eltávolítása is lehetséges.

Gélkromatográfiás alapon működő SPE méret szerinti elválasztást végez.

Az ioncserés alapon működő SPE oszlopok is használatosak, amelyek töltésszám és ionerősség különbsége alapján szelektál.
Különleges SPE-k: SPME, diszk.

Szilárd minták

A szilárd mintákat rendszerint oldatba kell vinni, hogy a bennük lévő komponensek mérhetőek legyenek, és hogy elkerüljük a szemcsék inhomogenitásából eredő mérési hibákat.

A szilárd anyagból lehet a komponenseknek csak egy részét kioldani. Evvel a módszerrel megállapítható, hogy a szilárd anyagból mennyire **mobilizálhatóak** az egyes komponensek (speciációs analízis). Számos, több lépcsős extrahálási folyamatot dolgoztak ki.

Szilárd minták kioldását **ultrahangos** kezeléssel lehet gyorsítani.

A **Soxlet** módszernél valamilyen oldószert elpárologtatunk a szedőből, és ennek a hűtőn lecsapódott gőze csöpög a mintára. Amikor az oldat (oldószer + kioldott anyag) szintje eléri a szifon szintjét a folyadék átbukik és lecsorog a szedőbe. A folyamat az extrahálás során számos esetben ismétlődik és a szilárd minta „kilúgozódik”, míg a szedőben az oldat egyre töményedik. A Soxlet extrahálás egyszerű mérsékelt hatékony időigényes módszer.

A **mikrohullámú roncsolással** a minták teljes mennyiségét feloldjuk. A feloldáshoz tömény salétromsavat vagy szilikát tartalmú mintáknál tömény salétromsav és hidrogén fluorid keverékét használják. A roncsolás szabályozott nagy nyomáson, hőmérsékleten időprogramozottan történik teflon bélésű edényekben.

A mikrohullámú feltárás, gyors hatékony módszer.

A gerjesztett oldószeres extrahálás (ASE) zárt edényben emelt hőmérsékleten és nyomáson végzett szerves oldószeres kioldás. A fenti körülmények közt a diffúzió felgyorsul, így a termodinamikailag meghatározott megoszlási egyensúly beállása gyors folyamat.

Származékképzés alkalmazása az analitikai kémiában

A származékolás célja lehet:

- Az extrahálás segítése,
- A detektálás javítása,
- Az analízis követelményeinek megfelelő formára hozás,
- Mátrixtól való elválasztás.

A szilárd anyagok összetétele nagyban függhet a szemcsék méretétől is (pl. lebegőanyag). Gyakran szükséges a víz eltávolítása a mintából a következő módszerekkel: elpárologtatás (hővel, vákuummal), szárítószerrel, liofilezással, fordított ozmózissal.

Klasszikus analitikai módszerek a környezetvédelemben

Csapadékképzéses reakciók:

Gravimetria tömeghatározási módszer, ahol a meghatározandó komponenshez fokozatosan reagenst adunk, és a levált csapadék tömegét mérjük.

$$K_{old} = [K^{z+}]^{v+} [A^{z-}]^{v-} / [K^{v+} A^{v-}]$$

Ahol: K_{old} , oldhatósági egyensúly; K és A, kation és anion; v^+ és v^- , kation és anion sztöchiometriai együtthatói; z^+ és z^- , kation és anion töltése.

Gravimetriánál alkalmazott reakcióknál $K_{old} < 10^{-8}$.

Gravimetria folyamata:

Lechapás reagenssel → oldat és csapadék elválasztása → csapadék mosása → csapadék hőkezelése → csapadék mérlegelése → eredmény kiszámítása. Gravimetria makrokomponensek meghatározására alkalmas, lassú, olcsó, gyenge szelektivitású módszer.

- Elektrodpotenciál feszültség hatására eltérhet az egyensúlyi potenciáltól.
- Az ionok feszültség hatására elmozdulnak az ellentétes töltésű elektród irányába.
- A méréseknél mindig két elektródot használunk a **mérő** elektródot és a **referencia** elektródot.

Elektrodok típusai

- **Elsőfajú elektródok**, fémelektrodok ($Zn \rightarrow Zn^{2+}$), amelyek saját ionjaik az oldatába merülnek.
 - **Másodfajú elektródok**, fémelektrodok, amelyek saját rosszul oldódó sójukkal borítottak ($Ag/AgCl \rightarrow Cl^-$).
 - **Redoxi elektródok** inert fémelektrodok ($Pt \rightarrow Fe^{2+}/Fe^{3+}$), amelyeken más anyagok redoxifolyamatai játszódnak.
 - **Ionszelektív elektródok** félvezető vagy ioncserés alapon elektródok (üvegelektrod \rightarrow pH, $LaF_3 \rightarrow F^-$), amelyeken csak bizonyos anyagok reakciói történnek.
- Az elektródok bizonyos pH határok közt működnek, a mérést más ionok zavarhatják.

Környezetvédelemben felhasznált elektroanalitikai módszerek csoportosítása:

Potenciometria

A potenciometriás méréseknél a mért paraméter cellafeszültség ($I=0$). A mért érték lehet egy adott oldat értéke, vagy titrálási görbe.

Potenciometria alapegyenlete a **Nernst** egyenlet:

$$E = E_0 + \ln[c] \cdot R \cdot T / nF$$

Ahol: E, elektródpotenciál; E_0 , standard elektródpotenciál; [c], mért ion koncentrációja; R, egyetemes gázállandó; T, abszolút hőmérséklet; n, elektronszám változás; F, Faraday konstans.

Feszültség hatására az elektródpotenciál eltérhet az egyensúlyi potenciáltól.

Voltametria

Voltametriánál a mért paraméter az áramerősség a feszültség függvényében $E \rightarrow I$. Az ionok diffúzióval - ami függ az ionok koncentrációjától - jutnak az elektródra.

Coulometria,

Coulometriánál a töltésmennyiséget mérik állandó feszültség mellett. Az elektródok reakciójában keletkező töltést mérjük.

Az AOX (szerves adszorbeált halogén) mérés menete: Extrahálás \rightarrow Égetés \rightarrow Elnyeletés savas oldatban \rightarrow titrálás elektrolitikusan generált Ag^+ ionokkal.

Vezetőképesség mérés (konduktometria)

Konduktometriánál az ellenállás reciprokát mérik a konstans feszültség mellett.

Elektroforézis

Elektroforézis (Cu^{2+} , ClO_4^- , Fe^{2+}/Fe^{3+} , naftilszulfonátok, fenol, PAH), az ahol az ionok migrációs idejét mérjük állandó feszültség vagy áramerősség mellett. Az egyes komponensekre jellemző migrációs idejük, míg a jel nagysága (csúcsterülete) arányos mennyiségükkel. A környezetvédelemben főleg a kapilláris elektroforézis néz fontos szerep elé.

Atomi spektroszkópiák

Indukciós plazma gerjesztés (inductively coupled plasma, ICP):

- Az ICP **elem** (atom) szelektív analízis módszer,
- A módszer az adott elemre jellemző hullámhosszúságú energiák **kisugárzásán** (emisszióján) alapul,
- **Nyomelemzésre** alkalmas módszer ($10^{-3} - 10^{-18}$ mol/l),
- **72 elem** meghatározása lehetséges (fémek, átmeneti elemek, nem-fémek).

A gerjesztést **rádiófrekvenciás mágneses** térrel végezzük (1-5 kV, 2,7 Mhz) **argon plazmában**. Az ICP-nél a plazma hőmérséklete 7000-8000 K körül van. Az argon jól gerjeszthető mágneses térben, és a gerjesztett argon atomok adják át energiájukat a mint részecskéinek.

A külső elektronehéjon lévő molekulát gerjesztjük, amitől az elektron gerjesztett állapotba kerül és a gerjesztett állapotból nyugalmi állapotba visszatérve az **elemre jellemző hullámhosszú sugárzást** bocsát ki. Az emissziós sugárzás fokozódik a hőmérséklet emelésével, mert a hőenergiája átalakulhat sugárzássá. Az optikai ICP-nél a sugárzás **hullámhosszát** (minőségi jellemző), és **intenzitását** (mennyiségi jellemző)mérjük.

Emisszió egyenlete (ICP, XFR, láng fotometria)

$$I_{em} = A_{ij} * h * \nu_{ji} * N_j$$

I_{em} :	Emisszió intenzitása
A_{ij} :	Elektron átmenet valószínűsége i és j szint között
h :	Planck állandó
ν_{ji} :	Kisugárzott fény frekvenciája az ji átmenet esetén
N_j :	Gerjesztett molekulák száma (arányos a koncentrációval)

Minőségi jellemző a ν_{ji} , mennyiségi jellemző a fényintenzitás (anyagra jellemző érzékenységgel) szorozva.

Magasabb koncentrációknál a fényintenzitás nem lineáris a koncentrációval az anyag önabszorpciója miatt az emissziós eljárásoknál. Ilyenkor hígítani kell a mintát.

Mérés menete: az oldatba lévő mintát beporlasztjuk, a gerjesztett térbe, itt először az oldószer elpárolog és a vizsgált elem sója kis szilárd szemcsékké (aeroszol) alakul. A továbbiakban a só elemeire szétesik, atomizálódik. Az atomizálódott anyag a gerjesztés hatására energiát vesz fel (atomos és részben ionizált állapot), amit sugárzás formájában bocsát ki.

ICP kapcsolható optikai rendszerhez (ICP-OES) vagy tömegspektrométerhez (ICP-MS). Hagyományos készülékekben az optikai rendszer végigpásztázta a hullámtartományt. A modern készülékekben nincs mozgó tükör, az optikai rendszer egy felületre vetíti az egész spektrumot (Echelle tükör), amit egyidejűleg vesz fel. A jobb térkihasználás és a megfelelő felbontás miatt a spektrum kétdimenziós alakban jelenik meg.

ICP előnyei:

- Univerzális módszer (72) átmeneti és nem fémes elemekre is
- Széles lineáris koncentráció tartomány (10^6)
- Nincs szükség elemenkénti lámpacserére
- Könnyű kezelhetőség (automatizáltság)
- Kevés gond a háttérkorrekcióval, és mátrixhatással
- Gyors, pontos módszer
- Olcsó üzemeltetésű módszer

Az ICP-MS érzékenyebb, mint az ICP-OES. Az ICP-MS olyan elemek kimutatására is alkalmas, amelyeknek nincs értékelhető fény emissziója (pl. U), és izotóp arányok meghatározására is alkalmas.

A plazmát elő lehet állítani kémia gerjesztéssel is, ahogy ez a gázkromatográfval egybekötött atom emissziós detektornál is történik GC-AES.

Lángfotometria (flame photometry)

Az **alkáli és alkáli-földfémekre** alkalmazható emissziós optikai módszer. Alapegyenlet megegyezik az ICPnél leírtakkal)

Ezeket az elemeket könnyű gerjeszteni, mivel külső elektronhéjukon egy vagy két elektron van csak. Az emisszióhoz szükséges 800-1000 K hőmérséklet földgáz lángjával elérhető. **A kimutathatóságot befolyásolja, hogy milyen vegyületben van az anyag.** A CaCO_3 alkalmas a CaSO_4 nem. A készülék lángjába beporlasztjuk a vizsgálandó oldatot, ahol atomizálódik, gerjesztődik és sugároz. Az optikai rendszer prizmákból és szűrőkből áll.

Röntgen fluoreszcens spektroszkópia (X-ray fluorescens spectroscopy, XFR)

Az anyagot **nagyenergiájú röntgensugárással besugározzuk.** A sugárzás a mélyenfekvő pályákról kilő egy elektront. A kilőtt elektron helyére, a külső pályákról, elektronok ugranak be, miközben az átmenetre (elemre és pálya különbségre) **jellemző sugárzást bocsátanak ki.** Az emisszió alapegyenlete itt is érvényes (lásd ICP).

A **19. (K) elemtől felfelé** jól használható közepesen érzékeny (10-50 ppm) módszer. Elsősorban szilárd minták terepi vizsgálatára megfelelő módszer.

Atom abszorpciós spektroszkópia (atomic absorption spectroscopy, AAS)

Elem (atom) szelektív analízis módszer, főleg szervesetlen komponensek elemzésére alkalmas. A módszer alapja, hogy az **atomok az elemre jellemző hullámhosszúságú fényt elnyelik.** A fényelnyelés energiája az elektronok alapállapotból gerjesztett állapotba kerülésére fordítódik. Az adott elem analíziséhez szükséges, **megfelelő hullámhosszúságú fényt** az adott elemet tartalmazó kisülési csövek biztosítják.

Az elnyelési hullámhossz a minőségi jellemző az elnyelés intenzitása a mennyiségi mutató.

Nyomelemzésre alkalmas módszer ($10^{-3} - 10^{-15}$ M/L).

Főleg fémek kimutatására alkalmas eljárás. Gerjesztéstől függően 40-60 elem analízisére alkalmas.

Az AAS vizsgálatokhoz az anyagot **oldott állapotba** kell hozni, ami történhet mikrohullámú roncsolással, vagy Soxlet vagy más extrakcióval.

Lambert-Beer törvény vonatkozik az AAS-re.

$$A = -\log I / I_0 = k \cdot l \cdot c$$

A: Abszorpció

I: Kimenő fényintenzitás

I_0 : Bemenő fényintenzitás

k: abszorpciós együttható (mol/l)

c: koncentráció

l: optikai úthossz

A kalibráció kis koncentráció tartományoknál lineáris, de magasabb koncentrációknál ettől eltér. Ekkor a mintát hígítani kell, hogy koncentrációja a kimért lineáris tartományra essen.

Az abszorbeállandó fényt a fémre jellemző üreges katódos (hollow cathod) lámpa állítja elő.

A fény áthalad a vizsgálandó elem atomizált gőzén, ahol szelektív abszorpciót szenved.

Az optikai rács segítségével beállítjuk, hogy a kívánt hullámhosszú fény jusson a detektorra.

A referencia sugárt egy Hg vagy deutérium lámpából nyerjük. A mérés általában 190 - 870 nm hullámhossz tartományban, 0,5 nm felbontás mellett történik.

Minden elemhez külön lámpa kell.

Láng gerjesztésnél a minta oldatát porlasztással jutatjuk a lángba.

A lángban cseppekből az oldószer elpárologtatásával a vegyület aeroszlja (szilárd mikrorészecskék) képződik. A gerjesztés hatására a vegyületek atomjaikra esnek szét.

Az **anyagok stabilitásuktól függően igényelnek gerjesztést**. Az erősebb kötéssel rendelkező, nehezen illó anyagok nagyobb energiájú, magasabb hőmérsékletű lángot igényelnek. A lángok hőmérséklete nem egyenletes ezért gondosan kell megválasztani a beporlasztás, besugárzás és a mérés helyét. A mennyiségi kiértékelés alapja a jel platójának magassága. A grafitkályhas gerjesztéssel magasabb hőmérsékletet lehet elérni. A grafit kályhában bepárlással a gerjesztés előtt koncentrálni lehet a mintát, így nagyobb érzékenységet elérni. A kimutatást javítani lehet, ha az anyagokat a megfelelő kémiai formára hozzuk. Hibrid generátorral nagyban megjavítható a Hg és az As kimutatása. A kimutatás javítható a rések jó megválasztásával és a megfelelő háttérkorrekcióval.

Molekulaspektroszkópia

Általános fogalmak

Az elektronmágneses hullámok kölcsönhatásba léphetnek a vizsgált anyagokkal. Molekulák belső energiája csak, **diszkrét értéket** vehet fel, ezért az energia-felvételek és leadások is kvantáltak. Az energia felvétel **hullámhossza** jellemző az anyagra. Egy molekulában háromféle módon történhet az energia felvétel és leadás, amelyek csökkenő sorrendben a következők: elektronátmenetek > rezgésiátmenetek > forgásiátmenetek. A mért jelenség lehet elnyelési (abszorpció) vagy sugárzási (emisszió).

Alapképletek:

$$E = h \cdot \nu E, \text{ foton energiája; } \nu, \text{ fény frekvenciája; } h, \text{ Planck állandó.}$$

$$c = \lambda \cdot \nu c, \text{ fény sebessége az adott közegben; } \lambda, \text{ fény hullámhossza}$$

$$n_x = c_0 / c_x$$

n_x , x közeg törésmutatója; c_0 , fény sebessége vákuumban; c_x , fény sebessége x közegben.

Nagyobb hullámhossznak kisebb a törésmutatója és energiája.

Lambert-Beer törvény:

$$A = \lg I_0 / I = \epsilon \cdot l \cdot c$$

A, abszorbancia; I_0 : bemenő fényintenzitás; I, kimenő fényintenzitás

ϵ : moláris abszorpciós koefficiens ($\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); l, rétegvastagság (fényút a mintában); c, komponens koncentrációja

$$T(\%) = I / I_0 \cdot 100$$

T : transzmittancia

Az energia átmenetek csak vákuumban különíthetők el teljesen egymástól és csak az egyszerűbb molekuláknál.

•A közeg sűrűsödésével és a molekulák szerkezetének bonyolódásával a sávok összeolvadnak, és folytonossá válnak burkológörbét adva.

•A burkológörbe maximuma, **hullámhossza** (λ) jellemző az adott molekulára, vagy egy adott funkciós csoportra.

•A maximum nagysága, az **intenzitás** függ az anyag **koncentrációjától** (c) és a molekula **szerkezetétől** (ϵ).

Egy oldatban különböző molekulák elnyelése és sugárzási intenzitása összeadódik.

A mérések rendszerint szűrős, prizmás, vagy tükrös fényfelbontó készülékekkel, a minta átvilágításával történik. Az optikai alkatrészek (tükrök, küvetták) rendszerint olyan anyagból készülnek, amelynek elhanyagolható a fényelnyelése a vizsgált fénytartományban. A helyszíni méréseknél a fényvisszaverésen (reflexió) készülékeket is alkalmaznak.

Infravörös spektroszkópia (IR)

- Az elektromágnes sugárzás abszorpcióján alapuló módszer a 0,7-300 mm hullámhossz (1,7–0,005 eV) tartományban.
- A molekulában lévő atomok és csoportok **rezgési** (vibrációs) és **forgó** (rotációját) normál frekvenciáit, elnyelési sávjainak **hullámszámát** ($1/\lambda$, cm^{-1}) méri.
- Az elnyelés **intenzitása koncentráció és anyag függő**.
- Közepesen érzékeny, csoport specifikus módszer.
- Környezetvédelmi alkalmazási területek: kőolaj, fenol szennyezések, légszennyező gázok (SO_2 , CO , CO_2 , NH_3).

IR rezgések fajtái:

	síkban szimmetrikus nyújtó,
	aszimmetrikus nyújtó,
	ollózó
	hajlító
térben	csavaró
	csóváló

Rezgések energiái:

- A rezgési erők nagyobbak, mint a forgásiak.
- Nagyobb mozgásoknak (táv, szög) nagyobb az energiája mint a kisebbek mozgásoknak.
- A nyújtó erők nagyobbak, mint a hajlító erők
- A hidrogén nyújtó rezgései magasabb frekvenciájúak, mint más atomoké.
- Kötésrendek frekvenciája: hármas > kettős > egyes. IR vizsgálatok közege: •

Gáz Jól elvált sávok, 1 méteres küvetták (fényút a küvettahossz többszöröse is lehet tükrök segítségével). •**Folyadék:** Inert hordozóra felvitt folyadékfilm (0,02- 1 mm) alakjában. A víz oldószerként nem jó.

•**Szilárd** Az anyagot KBr pasztillába keverik (0,2-1%). Mérsékelt kvantitatívitású eljárás.

IR spektrométer alkatrészei:

Fényforrások:	Közeli IR,	wolfrám
	Analitikai IR,	SiC, Zr-Th-Y, NiCr, szabályozható lézer
	Távoli IR,	Hg

Cellák, tükrök, lencsék az IR-ben áteresztő LiF, NaCl, KBr anyagúak, nedveség érzékenyek.

Fényosztók: szűrők, prizmák, rácsok, rések, interferométerek, rendszerint KBr anyagból.

Az interferométerek használata lehetővé teszi a Fourier transzformáció (FTIR) matematikai eljárás alkalmazását. AZ FTIR technika sok felvétet hasonlít össze, így a véletlenszerű jelek egymást kioltják, és a hasznos jelek pedig erősítik egymást.

Detektorok: HgCdTe, InSb, NiCr-Ni, fotocella, fotocella-sor, termisztorok (félvezetők).

Ultraibolya-látható spektrofotometria (UV-VIS)

Az ultraibolya (UV, 180-400 nm) és látható fény (VIS, 380-800 nm) spektrofotometriás módszerek az elektromágneses sugárzás **szelektív abszorpcióján** alapulnak. Leggyakrabban olyan műszert használunk, amely mindkét tartomány mérésére alkalmas.

Elektronátmenetek energiatartalma: $\sigma \rightarrow \sigma^* > \pi \rightarrow \pi^* \approx n \rightarrow \sigma^* > n \rightarrow \pi^*$.

A fényelnyelés hullámhossza az anyagok szerkezetében lévő funkcióscsoportok gerjeszthetőség szabja meg. A kromorf (fényelnyelő) csoportok hullámhosszát más szubsztituens csoportok eltolhatják. Fényelnyelés moláris extinciókoefficiensét (ϵ) befolyásolhatja a hőmérséklet, pH és az oldószer.

Egy oldószer csak az oldószerre jellemző elnyelési hullámhosszsáv (cut-off) feletti hullámhosszú méréseknél lehet használni.

A fényt nem adszorbeáló anyagok kromorf csoportokkal képzett vegyületei, származékai (pl. fémek, savak) UV-VIS módszerrel mérhetőek.

UV –VIS mérés **közepesen érzékeny** ($10^{-5} - 10^{-3}$ mol/l), **mérsékelt szelektivitású** módszer. Javasolt működési tartomány: $20\% < T < 60\%$ és $0,7 < A < 0,2$.

Az eredő abszorpció a komponensek lineáris kombinációja.

Zavaró komponenseket tartalmazó mátrix esetén addíciós kalibrációt alkalmazunk, ahol a hozzáadott ismert koncentrációból számítjuk az ismeretlen koncentrációt.

UV-VIS műszerek:

- Lámpák: deutérium, halogén (WJ), Xe,
- Fényfelbontók: szűrők (5-50 nm felbontás), prizmák, rácsok, interferométerek (0,1 nm felbontás lehetséges).
- Egy és két utas készülékek.
- Küvelták: kvarc (UV-VIS), üveg (VIS), gáz (50-200 mm), folyadék (10- 50 mm).
- Detektorok: fény sokszorozók, fotocellák, diódasorok (InGaAs).

Környezetkémiai alkalmazások: fémek komplex alakban, BTEX, fenol, ammónia, jóformán összes szennyezőre van színreakció.

Terepi méréseknél fényvisszaverésen alapuló műszerek is használatosak.

Fluoreszcenciás spektroszkópia (Fl)

- A fényelnyeléshez és a kibocsátáshoz kvantált energiák tartoznak.
- A kibocsátott energia kisebb, mint a felvett, ezért a fluoreszcens sugárzásnak nagyobb a hullámhossza, mint az abszorpciójának.
- Az elnyelési sávoknak csak kis hányada okoz fluoreszcenciát.
- Fluoreszcens spektrumon egyszerűbbek, mint az abszorpciósok
- Fluoreszcens sugárzás 10^{-9} sec-on belül követi a gerjesztést (besugárzás).
- Foszforencia sugárzás 10^{-6} sec – hét időtartamon belül követi a gerjesztést.

$$I_F = I_0 * \Phi * \epsilon * l * c$$

I_F , fluoreszcencia intenzitása; I_0 , gerjesztő fény intenzitása; Φ , kvantumhasznosítási tényező; ϵ , moláris abszorpciós koefficiens ($\text{dm}^3 * \text{mol}^{-1} * \text{cm}^{-1}$), l , rétegvastagság (fényút a mintában); c , komponens koncentrációja.

A Fluoreszcencia mindazon paramétereiktől függ, amelyektől az UV-VIS, de oldószertől még hangsúlyozottabban. Poláros oldószerek kioltják a sugárzást (quenching).

Fluoreszcens spektrofotométer alkatrészei.

- Fényforrás: Xe, Hg lámpák, gyakran pulzáló fénnel.
- Optika: kvarc
- Állítható rések
- Detektor : fény sokszorozó (fotomultiplier), dióda
- Oldószer: szerves, apoláris

A besugárzás és a fénykibocsátás mérése rendszerint egymásra merőleges elrendezésű.

Érzékeny (ppb), közepesen jó szelektivitású módszer.

Fluoreszcencia környezetanalitikai felhasználásai: olajszennyezés (PAH), levegő kéndioxid tartalmának meghatározása ózonnal, levegő NO_x tartalmának meghatározása, kromatográfias detektorok, immuneszék.

Fényszóráson, alapuló technika, ahol a bemenő fénnel **ellentétes oldalon** kijövő fény intenzitását mérjük.

- Ha az oldatban részecskék található, akkor a bemenettel szemközt kijövő fény intenzitását csak részben határozza meg a Lambert –Beer törvény.
- Az oldatban lévő részecskék szórják a fényt, ami szintén csökkenti a kijövő fény intenzitását.
- A kijövő fény intenzitása nem csak a részecskék koncentrációjától függ, de az alkalmazott fény hullámhosszától és a fényútba kerülő részecskék szemcseméretétől is.

A mérésekhez kalibrálás szükséges standard szemcseméretű oldatokkal. Környezetvédelmi alkalmazások: szulfáttartalom, zavarosság, lebegőanyag meghatározások. **Fényszóráson**, alapuló technika, ahol a bemenő fényvel **merőlegesen** kijövő fény intenzitását és spektrumát mérjük. A kijövő fény függ a részecskék koncentrációjától, anyagától, és az alkalmazott fényforrástól. Környezetvédelmi alkalmazásai megegyeznek a turbidimetriával.

Kromatográfia

A kromatográfia elválasztási, **szeparálási módszer**.

Kromatográfia alapfogalmak:

- **A mozgófázis magával ragadja a vizsgálandó anyagot, amely így a beinjektálási ponttól a detektorig jut.**
- **Az anyagok haladtukban egyensúlyi állandójuk szerint megoszlanak az állófázis és a mozgófázis között.**
- **Az állófázissal erősebb kölcsönhatással rendelkező anyagok később jutnak el a detektorig (eluálódnak), mint a gyengébb kölcsönhatással rendelkezők, mivel több időt töltenek az állófázisban.**
- **Az anyagok vándorlásuk során egyre szélesebb Gauss görbe alakú tartományt foglalnak el az anyagok diffúziója, a fázisok közti lassú fázisátmentek és az egyenlőtlen áramlás miatt.**

A vizsgálandó anyag zónája mozgófázisban a mindig kissé előrébb van, mint az állófázisban, ezért a zóna elején az állófázisba való bediffundálás az uralkodó folyamat, míg a zóna végén az állófázisból kidiffundálás a mozgófázisba az uralkodó.

Az **ürescső** (kapilláris) oszlopokban a lamináris áramlásprofil zónaszélesedést okoz. Ugyanis a cső közepén gyorsabb az áramlás, mint a falnál. Ráadásul a cső közepéről a vizsgálandó anyag molekuláinak időre van szüksége, hogy elérjék a falat és kölcsönhatásba lépjenek az állófázissal.

A **töltetes** oszlopokon a szemcsék közötti egyenlőtlen áramlás és az üregek rossz öblítettsége okoz még zónaszélesedést. Ugyanis a töltetek porózusak, hogy az állófázisnak elég nagy legyen a tömegterhelhetősége, de a pórusokban az anyag áramlása a mozgófázisban csak lassú diffúzióval történik és nem a gyorsabb konvekcióval.

Kromatográfiás kifejezések:

Retenciós idő (t_R) megmutatja, hogy egy anyag a beadagolási ponttól a detektorig mennyi idő alatt jut el. A retenciós idő az adott anyagra jellemző **minőségi** mutató, amely változatlan kísérleti körülmények között nem változik, jól reprodukálható. A standarddal azonos retenciós idejű csúcsokról feltételezhető, hogy megegyeznek a standarddal.

Csúcsterület (A) a vizsgált anyag **mennyiségére** jellemző mutató. A csúcsterület arányos a mintában lévő anyag koncentrációjával.

Elméleti tányérszám (N) a csúcsok hegyességének mérőszáma. Megmutatja a rendszer hatékonyságát, azt, hogy egy kromatogramon hány csúcs helyezhető el. Nagysága a milliótól (GC, EKC) tízezres (HPLC) nagyságrendig terjed a mai oszlopoknál. Az elméleti

tányérszám kiszámítása a retenció idő, és a csúcs félmagasságban mért szélességének (w_h) felhasználásával történik.

Kapacitásarány (k) megmutatja, hogy az állófázis milyen erős kölcsönhatásba lép a vizsgált anyaggal. Ajánlott működési tartománya 3-15 értékig terjed.

Szelektivitás (α) két anyag relatív-retenciójának mértéke, megmutatja a két anyag kölcsönhatásának arányát az állófázishoz. GC, EKC gyakorlatában $\alpha = 1.02 - 1.05$ míg a HPLC analízisekben $\alpha = 1.2 - 1.3$ érték szükséges két anyag megfelelő elválasztásához.

Felbontás (R_s) megmutatja, hogy mennyire sikerült két anyag csúcsát elválasztani. Azonos nagyságrendű csúcsok esetén $R_s = 0.7$ értéknél már tapasztalható az elválás, de a csúcsok mennyiségi kiértékelése nem pontos. Az $R_s = 1.5$ érték az alapvonal elválasztás, ahol azonos nagyságrendű csúcsok mennyiségi kiértékelése zavartalan. Több nagyságrendnyi különbségű csúcsok pontos kiértékeléséhez $R_s > 1.5$ szükséges és a kis csúcs elsőként elúciója előnyös.

Kromatográfia előnyei a környezetvédelmi analitikában:

- Pontos meghatározás nyomnyi mennyiségekre,
- Mátrixkomponensek zavaró hatása kiküszöbölhető,
- Kicsiny mintaszükséglet,
- Széles lineáris meghatározási koncentráció tartomány,
- Több meghatározás egy analízis során,
- Gyors módszer,
- Jól kapcsolható anyag meghatározási technikákhoz,
- Fejlett műszerezettség, automata üzemmód.

A különböző kromatográfiai módszerek kölcsönhatási energia típusai, nagysága és a módszerek előnyös tulajdonságai eltérnek egymástól.

A könnyenilló apoláris anyagok (benzin, szerves oldószerek) analízisére a gázkromatográfia (GC) a legelőnyösebb.

A nehezenilló, poláris, hidrogénkötési hajlammal rendelkező, hőre bomló anyagok analízisére (pl. szerves savak, karbamát növényvédő szerek, TNT) a folyadékkromatográfia a legjobb.

Az elektrokinetikus kromatográfia (EKC) a nagymolekula-súlyú és ionos molekulák analízisére (pl. fémionok, fehérjék, detergensok) a legalkalmasabb.

A vékonyréteg kromatográfiának (TLC, VRK) az állófázisra felvitt foltokat a kapilláris erők miatt felfutó mozgófázis magával ragadja. A módszernek csekély a jelentősége a környezetvédelemben a módszer kis hatékonysága és a módszer rossz mennyiségi kiértékelhetősége miatt.

Gázkromatográfiában (GC) a mozgófázis inert gáz (H_2 , He, N_2) és az állófázis szilikon polimer. A GC kölcsönhatási energiáinak túlnyomórésze forrpon szelektív (diszperziós erők). Rendszerint ürescső, kapilláris oszlopot használunk GC-ben. A mozgófázis kis viszkozitása miatt 10-50 m hosszú, 0,1-0,5 mm átmérőjű oszlopok használata a megszokott. Az alkalmazott állófázis vastagsága 0,2 μm -tól (nehezen illó komponenseknél pakura, trigliceridek, DDT) 5,0 μm -ig (könnyen illó komponensek, szerves oldószerek, etilén) terjed.

Az analízisek során rendszerint hőmérséklet programmal emeljük a termosztát hőmérsékletét, hogy a később elúáló (nehezebben illó komponensek megfelelő csúcsalakkal és rövid idő alatt legyenek detektálhatók. Ugyanis a hőmérséklet program alatt csökken az állófázis visszatartó ereje.

A beinjektálás (1-4 μ) rendszerint szerves oldószerből történik forró injektorba, ahol a minta pillanatszerűen elpárolog. A beinjektálás mennyisége rosszul reprodukálható, ezért a GC méréseknél a belsőstandard használata elengedhetetlen. A belső standard használatát

az indokolja, hogy az eltérések a belsőstandardra és a vizsgált molekulára várhatóan azonosak, így a beinjektálási bizonytalanság kiküszöbölhető. Az oszlop túlterhelésének elkerülésére áramlásosztót (split) alkalmazunk, gyakran 1: 100 arányban. A nyomelemzéseknél a beinjektálásnál az áramlásosztó zárva van (splitless) csak 1 perc múlva nyitjuk, hogy az oldószer maradékát lefűvassuk. A splitless technikánál az oldószer túltelítő hatása úgy küszöbölhető ki, hogy az oldószer még hideg oszlopon halad át az oszlopon, amikor a mintakomponensek még az oszlop elején tartózkodnak. A mintakomponensek elúcióját hőmérséklet programmal hajtjuk végre jóval magasabb hőmérsékleten, mint a beinjektálás.

Az anyagok detektálására univerzális detektort (FID) szelektív detektorokat (NPD, ECD) használhatunk, de a legmegfelelőbb a gázkromatográffal összekötött tömegspektrométer (GC/MS). A GC/MS nem csak érzékeny módszer, de az anyagok egyértelmű beazonosítására is lehetőséget ad.

Folyadékkromatográfia (HPLC) módszernél a mozgófázis folyadék, és az állófázis töltetes. A folyadékok magas viszkozitása, és az állófázis kis permeabilitása (apró szemcsék) nem engedi meg a hosszú oszlopok használatát, ezért a használt oszlopok hossz 5 - 25 cm-ig terjed. A töltetek szemcsemérete 3-10 μm , és a szemcsék pórusmérete 60 - 300 Å tartományba esik.

A mozgófázis kiválasztásánál fontos szempont a folyadékok polaritása, és hogy ne zavarják a detektálást.

Az állófázis lehet *fordított fázis*. Ekkor a mozgófázis és az állófázis közötti megoszlási folyamatok eredményezik az elválasztást. A leggyakrabban használt fordított állófázis a tizennyolc szénatom hosszú szénláccokkal borított szilika szemcse (C_{18}). A legerősebb visszatartása az apoláris molekuláknak (PAH, PCB) van, míg a leggyengébb visszatartással a poláris molekulák (glicerin, triaziniok) rendelkeznek. Az ilyen rendszerekben a leggyengébb oldószer a víz és a legerősebb a hexán. Az általánosan használt eluensek víz, acetonitril, metanol, acetone.

A *normálfázisú kromatográfiánál* az állófázis szilikagél. Az állófázis felületén adszorbeálja a minta molekuláit. Az anyagok eltérő erősségű adszorpciója az elválasztás alapjai. A legerősebben a poláris molekulák kötődnek, míg leggyengébben az apolárisak. Ebben az elrendezésben a legerősebb oldószer a víz és a leggyengébb a hexán.

Leggyakrabban használt eluensek: hexán, kloroform, etilacetát.

Az *ioncserés kromatográfiánál* az állófázis ioncserélő gyanta. Ekkor az anyagok eltérő ionerőssége (elektronegativitása) az elválasztás alapja. Más gyantát használunk kationokra (kationcserélő) és anionokra (anion cserélő). Az oldószer vizes puffer, a mozgófázis erősségét pH, ionerősség, és adalék ionokkal (fajta, koncentráció) lehet szabályozni. Az adalék ionok versengnek a mintamolekulákkal az állófázis kölcsönhatási pontjaiért.

A *gélkromatográfiánál* (kizárásos kromatográfia) az elválasztás az anyagok mérete szerint történik. Az állófázison több méretű üreg található. A kis molekulák nagyon sok üregbe beférnek, ezért ezek visszatartásuk, retenciójuk nagy lesz. A nagymolekulák az üregeknek csak kis hányadába férnek be ezért retenciójuk csekély lesz. Az állófázisok különböznek egymástól üregméretben, és kémiai jellegben. A gélkromatográfia használatos normál és fordított üzemmódban is.

A HPLCben a mozgófázis erősségét összetétel gradienssel szabályozzuk. A kezdeti gyenge eluenstől kiindulva egyre erősebb eluenst használunk.

A mozgófázis egyenletes, jó reprodukálható áramlásáról pumpák gondoskodnak, amelyek teljesítménye ml/perc tartományba esik, és 250 atmoszféráig jól használhatóak.

A HPLC gyakorlata hurok injektorokat használ, ami lehetővé teszi a pontos jól reprodukálható mintabekecséget.

A detektorként UV, fluorescens, fényszórásos detektorok a legelterjedtebb, de a HPLC/MS is kezd rutinműszerré válni.

Az **elektrokinetikus kromatográfia (EKC)** a kapilláris elektroforézis és a kromatográfia összekombinálása.

Micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC) esetében a megoszlás a háttérpuffer és a pufferben oldott micellák (mikroagregátumok) között történik. A mintakomponensek migrációjáról az elektroforetikus mobilitás és az elektroosmotikus (EOF) áramlás gondoskodik. A komponensek migrációs ideje EOF és a micella migrációs ideje közé esik. Az MEKC jó módszer a szervezetből kinyert ionos anyagok (plazma, vizelet) vizsgálatára. Környezetvédelemben az MEKC még nem terjedt el széles körben mivel még nem kaphatók elég érzékeny detektorok, de valószínűleg ezt a problémát a közeljövőben kiküszöbölik.

A kapilláris elektrokinetikus kromatográfia (CEC) elrendezésben a kapilláris (20-50 cm, hosszú, 0,050 mm átmérőjű) HPLC töltettel van töltve, és az áramlásról az EOF gondoskodik. Az EOF főleg a szilika szemcsék felületén generálódik ezért a szemcsék üregei is jól mosottak, ami nagy hatékonyságot eredményez.

Az EKC-MS kapcsolása még nem rutinszerűen kidolgozott, de 5 éven belül azzá válik. A többdimenziós kromatográfias megoldások növelik a szelektivitást, ami lehetővé teszi az egydimenziós elválasztásban együtt eluálódó csúcsok szétválasztását. A több dimenziós megoldással a mátrixkomponensek túlterhelő hatásától is meg lehet szabadulni. Ma már jól működő, automatizálható többdimenziós kromatográfias készülékek kaphatóak.

Tömegspektroszkópia (MS)

Tömegspektroszkópia **anyagazonosítási módszer.**

- **Az anyagokat ionizált formájukban analizáljuk. Az ionizálás hatására az anyag részecskékre eshet (fragmentálódhat).**
- **Az ionok nagyvákuumban (10^{-7} torr) mágneses és elektromos erők hatására az ellentétes pólus felé repülnek, anélkül, hogy más ionokkal ütköznenek.**
- **Az ionok röppályája (sebessége, elhajlása) függ tömegüktől és töltésüktől. A nagyobb tömegű ionok kisebb sebességgel repülnek, vagy a mágneses tér hatására kevésbé görbül el röppályájuk .**

Az MS folyamata bejuttatás a készülékbe → ionizáció → anyagok elválasztása röppályájuk alapján (sebesség, pályáiv) → Detektálás fénysokszorozóval.

Az egyszerűbb összetételű mintáknál elkerülhető a kromatográfias előszeparálás az MS előtt.

Ionizáció

A Lézersugaras ionizáció mátrix segítségével (MALDI) módszernél lézerrel jó hatásfokkal gerjesztjük a háttéranyagot, ami átadja ionizáció közben energiáját a minta komponenseknek. A MALDI lágy ionizáció, nem okoz fragmentációt.

Az induktilvan kapcsolt plazma gerjesztés (ICP-MS) megszokott ionizáció az elemanalitikai mérésekhez.

Az *elektronütközéses (EI)* kemény ionizáció a legelterjedtebb ionizációs mód. A nagyenergiájú elektronok ütköznek a molekulákkal, amikből egy elektront ütnek ki pozitív töltésű iont létrehozva. A nagy energiájú ütközések **nem csak ionizációt, de a molekula hasadását (fragmentációját)**, és belső átrendeződését is eredményezik. Az általánosan használt 70 eV energia kompromisszum eredménye. A szerves molekulák nagy részé fragmentációdik jelegzetes darabokra esik szét, de a molekula ion is sok esetben detektálható. Az eredeti molekula a fragmensekből összeszerkeszthető, mivel a funkciócsoportok **jellegetes ionokat**, és leszakadó semleges részeket adnak. Fragmentogramon a

csúcsok helyét a **tömeg/töltés** (m/z) skálán mérjük, ami a **minőségi mutató**. A csúcsok intenzitását a **magasságukkal** mérjük, ez a **mennyiségi mutató**. Legnagyobb csúcs (base peak) a 100%, többi magasságát ehhez viszonyítjuk. Azonos körülmények között felvett fragmentogramon egy anyag mindig ugyanolyan csúcseloszlást mutat. Az izomer vegyületek is egyértelműen megkülönböztethetők fragmentációjuk alapján. Az izotóparányok (pl. (Cl, H, O) is jellegzetes fragmentum eloszlást eredményeznek. Az EI a leggyakrabban használt ionizáció a GC-MS technikánál.

Kémiai ionizációt (CI) reagensgázzal (CH_4 , NH_3) való ütközéssel kis vákumban (~ 1 torr.) hajtjuk végre. Ekkor elektronnal gerjesztjük a reagens gázt, ami átadja az energiát a mintának. Az ionizáció hatásfok nagy a reagensgáz viszonylag nagy koncentrációja miatt. A reakció termék lehet pozitív vagy negatív töltésű. A kémiai ionizáció lágy ionizáció, csekély fragmentációt eredményez.

Az elctrospray (ES) technikánál 3 kV feszültséggel ionizáljuk az oldat molekuláit a fűvókában. Az oldat a fűtött térben való elpárolgása során egyre kisebb egységekre esik szét a Coulomb tasztítás miatt. Végül csak a **töltött molekula**, vagy ennek adduktjai jutnak be az MS szeparáló részlegébe. **Nagymolekulájú** anyagok elemzésére is jó módszer.

Atmoszférikus kémiai ionizációnál (APCI) egy koronakisülés gondoskodik a befűvott oldat mintakomponenseinek ionizációjáról. Az oldat a fűtött térben való elpárolgása során egyre kisebb egységekre esik szét a Coulomb tasztítás miatt. Az APCI lágy ionizáció, molekula iont és ennek adduktjait eredményezi.

HPLC-MS megoldásnál jól alkalmazható az APCI és az ES ionizáció, hogy az **oldószer hatását** kiküszöböljük..

Szeperálás

A *mágneses szektorú* szeperálás azon alapszik, hogy egy **adott mágneses tér hatására a nehezebb ionok pályája kevésbé hajlik el, mint a könnyűeké**. A duplafókuszálású mágneses készülék felbontása a legjobb a különböző MS készülékek közül. A nagyfelbontás szükséges a pontos szerkezetazonosításhoz. A nitrogén és a CH_2 csoportok megkülönböztethetők tört tömegszámok alapján nagyfelbontású készülékkel.

A *quadrupol* MS készülékben a elektródák csak az **önrezgésüknek** megfelelően rezgő molekulát engedik át. A molekula **ionok rezgése függ a tömegüktől**, tehát egy bizonyos tömeg csak egy bizonyos frekvenciánál jut át. A quadrupol MS a környezetvédelmi rutinméréseknél a legelterjedtebb készülék. Kezelése egyszerű, nagy a robusztusságú, különösebb MS ismeret nélkül is jól használható. Érzékenysége jó, felbontása mérsékelt.

A *ioncsapda (iontrap)* MS szeparátornál kiválasztott ionok a **rádiófrekvenciás (RF)** erőtér hatására négy elektród közti térben **körpályán** mozognak. A frekvencia megváltoztatásával az adott mólsúlyú ionok kilövődnek a detektorba. Érzékeny, mérsékelt quantitativitású módszer.

Repülési idő tömegspektrométer (TOF) készüléknél Az ionokat **sebességük** alapján választjuk szét. Egy **adott energiájú gerjesztés hatására a kisebb tömegű ionok jobban felgyorsulnak**, mint a nagyobb tömegűek. A készülékben a becsapódási időket mérjük. A TOF rendkívül gyors mérésekre ad lehetőséget. Nagy molekulák ($10^3 - 10^6$ dalton) vizsgálatára kitűnő.

A lágy ionizációk nem adnak felvilágosítást a detektált molekula szerkezetére. A szerkezetazonosításhoz fragmentációt is végre kell hajtani, amit MS/MS kapcsolással lehet elérni. A szelektivitást és a kimutathatóságot is javítani lehet MS/MS megoldással, mivel az azonos tömegű molekulák szerkezete között különbséget lehet tenni, és a háttérzaj is csökkenthető, ami javítja az érzékenységet.

Az MS méréseknél mennyiségi kiértékelés alapja egy adott kiválasztott ion (SIM), vagy az összión (TIC) áramerősége. A SIM több nagyságrenddel érzékenyebb, mint a TIC,

mivel az egész észlelési idő alatt a kiválasztott m/z értéket mérjük. A TIC módban a felvétel végigpásztazza (scan) az egész m/z tartományt, tehát a vizsgálati idő tört része alatt detektálja csak a kiválasztott iont.

Szenzoros mérések

A szenzoros mérések alapja, hogy vizsgálandó vegyület standardjával, **lenyomatot** készítünk, vagy **immunreakciót** váltunk ki, ami létrehozza **az antitestet**. Az fenti módon elkészített fogadóhely (**receptor**) reagál a mérések során a vizsgálandó vegyülettel.

A vegyület lenyomatát úgy készítjük, hogy a vegyület standardját reagenscsoportjain keresztül térhálós polimerbe ágyazzuk, majd a vegyületet kioldjuk. Az így keletkezett üreg szelektíven visszatartja az adott vegyületet. A lenyomatot lehet mintatisztításra is használni, mert az adszorbens szelektivitása kiváló. Felhasználhatjuk, mint mérőeszközt is, mivel a polimer fényáteresztő, mágneses vagy vezetőképeségei függ attól, hogy az lenyomat helye üres, vagy a mintában lévő anyag az üregbe beágyazott.

Az immunreakciókon alapuló szenzorok készítésének menete:

- Az állatok testében a kiválasztott molekulával immunreakciót indukálunk, ami létrehozza az antitestet.
- Az antitestet kinyerjük az állatból és tisztítjuk.
- Az antitestet szilárd hordozóra visszük, vagy oldatban a hozzákeverjük a vizsgálandó mintához.
- Az antitest és a molekula reakció termékeit érzékeny módszerekkel mérjük (fluoreszcens, radioaktív stb.).

Az **immunreakciók csoportszelektív, rendkívül érzékeny módszerek**.

Az immunreakciók szelektivitását növelhetjük, ha több immunreagenst kapcsolunk össze. Gyakran indirekt detektálási módszer használunk. Ekkor valamilyen jelzett csoporttal ellátott molekulát is teszünk az oldatba, amely ugyanoda köt be, mint a vizsgálandó anyag. Ekkor a mintában eredetileg lévő molekula és a jelzet molekula verseng az antitest (receptor) kötőhelyeiért. Ilyenkor, ha nincs a mintában a keresett molekula intenzív jelet kapunk, ha sok van kicsi a jel.

Lehetséges az is, hogy a jelzett molekula végcsoportjai vesznek részt valamilyen reakcióban, ami jól detektálható terméket szolgáltat.

Az immunreakciók nagy előnye, hogy gyors érzékeny reakciókkal behatárolják, leszűkítik a vizsgált mintában azon vegyületek körét, amelyek pontos meghatározásához, drága, hosszadalmas nagyműszeres mérések szükségesek.

Környezetvédelmi mérések validálása, hitelesítése, mérések megbízhatósága

A környezetvédelmi méréseknek a következő követelményeknek kell megfelelni:

- **A méréseknek megbízhatóan a valós értéket kell megadni a keresett paraméterre (vegyület, vegyület csoport, kollektív jellemző).**
- **A méréseknek megbízhatóságát kétséget kizáróan igazolni kell.**
- **Az elvégzett mérések máshol is elvégezhetőnek kell lennie.**
- **A mérések értékeinek a kalibráció során megadott határok (koncentráció, mátrix, műszer) között kell maradni. Csak interpoláció megengedett, extrapoláció nem.**
- **A méréseknek összhangban kell lenni a rendeletekben megadott határértékekkel.**
- **Az eredményeknek jogilag is védhetőeknek kell lenni.**

A mérés hitelesítésének, megbízhatóságának, több fokozata van:

- **Validálás:** Egy új módszer létrehozásánál az összes statisztikai és megbízhatósági mérést el kell végezni.

- **Részleges hitelesítés, módszeradaptálás:** A mérés statisztikai értékelésének csak azon paramétereit kell ellenőrizni, ami eltérhet a szabványban leírtaktól (pl., torzítatlanság, visszanyerés), de a robusztuságot nem kell vizsgálni.
- **Kalibráló egyenes, vak minta:** A kalibráló egyenest és a vakminta mérését minden méréssorozat előtt el kell végezni.
- **A minőségellenőrző minta (quality control, QC):** A QC mintát a méréssorozatban 5-8 mintánként le kell mérni, hogy bizonyítsuk a mérési körülmények változatlanságát.

A validálást leegyszerűsíti a **hitelesített standardok**, oldószerek használata, és a készülékek gyártó általi hitelesítése, mert ezek minőségét nem nekünk kell bizonyítani.

Ahhoz, hogy a mérés hiteles legyen megfelelő referencia anyaggal, standarddal végzett **kalibráló egyenest** kell felvenni a minőségi azonosításhoz, és a mennyiségi viszonyításhoz. A környezetvédelmi méréseknél, ha mintatisztításkor, szállításkor vagy tároláskor anyagvesztésség történhet, akkor a mintához **kísérő standardot** (surrogate standard) kell adni, hogy a mintavesztésből eredő hibát kiküszöböljük. A surrogate minta jellemzőinek (pl. forrpont, polaritás) hasonlónak kell lenni a vizsgált komponenshez.

Validáláskor és más hitelesítéskor vizsgálandó paraméterek

(A paramétereknek csak bizonyos hányadát kell mérni ha nem validálunk):

Szelektivitás és/vagy **specifikusság** (*Selectivity / specificity*) megmutatja, hogy módszer milyen mértékben képes az adott alkotó meghatározására egyéb zavaró alkotók jelenlétében. Ha a zavaró jelek a vak mintában is jelet adnak, a kalibráló egyenesnek nem origó a tengelymetszete.

Linearitás (*Linearity*) megmutatja, hogy a mérőgörbe adott tartományában, az ún. lineáris tartományban, adott megbízhatósággal egyenesnek tekinthető. A linearitást a méréstartományt lefedő koncentrációjú minták elemzésével határozzuk meg. Az eredményekből a legkisebb négyzetek módszerével számítjuk ki a regressziós egyenest az alkotó koncentrációja függvényében. A kalibráló egyenesnek legalább **öt koncentrációs értéket** és egy **vak** mintát kell tartalmaznia. Az regressziós együtthatónak legalább $R^2 \geq 0.98$ kell lenni a linearitás elfogadásához. Nem lineáris tartományban is lehet elvileg mérést végezni, de ekkor legalább 8 mérési pontnak kell lenni, és más görbeillesztési módszert használni. A környezetvédelmi mérések kiértékelésénél, **csak interpolálni** lehet. A kalibráló görbe határain kívül eső mérést (extrapoláció) nem lehet elfogadni

Érzékenység (*Sensitivity*) megmutatja, az analitikai mérőgörbe meredekségét, az egységnyi koncentrációváltozásra eső jelváltozást.

Relatív érzékenység a mért anyag és egy vonatkoztatási anyag (belsőstandard, internal standard) érzékenységnek a viszonya (hányadosa). A relatív jelek és a hozzájuk tartozó koncentráció (vagy tömeg) hányadosok adataiból szerkesztett analitikai mérőgörbe a kalibráló egyenes. A belsőstandard kiküszöböli a beadagolási bizonytalanságot (GC). A belsőstandard és kísérőstandard aránya megmutatja a visszanyerés hatásfokát. Ugyanis a várt (a mérés előtt közvetlenül összemért standardok) és a mintakezelés után mért arányok egyértelműen meghatározzák a minta-előkészítés során történt mintavesztességet.

Torzítatlanság (*pontoság, Accuracy*) a rendszeres hiba kimutatására szolgál, a különböző koncentrációknál meghatározható rendszeres hibák átlagolódásával keletkező mérési jellemző (pl. vakérték). A rendszeres hibát úgy definiálhatjuk, mint a hiba egy olyan elemét, amely ugyanazon alkotó ismételt mérése során állandó marad, vagy kiszámítható módon változik. Független az elvégzett mérések számától és ez által azonos mérési körülmények között a mérések számának növelésével nem csökkenthető.

Precizitás (*Precision*) a mérési gyakorlatban a véletlen hiba mérőszáma. A véletlen hiba rendszerint a befolyásoló mennyiségek előre nem látható változásaiból ered. Az analitikai eredmény véletlen hibája nem korrigálható, de a mérések számának növelésével rendszerint

csökkenthető. Értéke általában függ az alkotó koncentrációjától, ezért a koncentrációfüggést is meg kell határozni, és dokumentálni kell. Mértéke a becsült tapasztalati szórás (standard deviáció, *SD*), vagy a százalékos szórás (relatív standard deviáció, *RSD%*).

Ismételhetőség (*Repeatability*) a precizitás azon fajtája, amely ismételt körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik: azonos minta, azonos módszer, azonos műszer, azonos kezelő, azonos laboratórium, rövid időintervallum a párhuzamos mérések között.

Reprodukálhatóság (*Reproducibility*) a precizitás azon fajtája, amely reprodukálható körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik: azonos minta, azonos vagy különböző módszer, különböző műszer, különböző analitikus, különböző laboratórium, hosszabb időintervallum a párhuzamos mérések között.

Stabilitás (*Stability*) vizsgálata a mérésre előkészített minta kémiai stabilitásának (pl. párolgás, hidrolízis, rohadás) meghatározását jelenti. Segítségével ugyanis a mérés időbeni és tárolási korlátai határozhatók meg, azaz egy olyan időintervallum vagy tárolási körülmény, amelyen belül az előkészített minták elemzési folyamatát be kell (lehet) fejezni. A stabilitás elfogadásának kritériuma, hogy a mérési eredmények szórása, és az átlagtól való eltérésük változása nem követhet egyirányú tendenciákat. A méréssorozat közben kontrol (QC) mintákkal kell a mérés körülményeinek változatlanságát ellenőrizni.

Kimutatási határ (*Limit of detection, LOD*) az a koncentráció, vagy anyagmennyiség, amelyhez tartozó válaszjel értéke megegyezik a vakminta közepes válaszjélének, és a vakminta válaszjéléhez tartozó tapasztalati szórás háromszorosának összegével.

Meghatározási határ (*Limit of quantitation, LOQ*) az a legkisebb koncentráció, vagy anyagmennyiség, amely még elfogadható pontossággal és precizitással határozható meg. A meghatározási határ megfelelő standard minta segítségével állapítható meg. Általában ez az analitikai mérőgörbe legalsó értékelhető pontja. Értéke a vakminta közepes válaszjélének, és a vakminta válaszjéléhez tartozó tapasztalati szórás 10 szeresének összege.

Meghatározási határ, és a kimutatási határ csak az adott méréstartományban végzett mérésekkel (interpoláció) határozható meg.

Zavartűrés (*eszköz- és környezetállóság, Ruggedness*) különböző mérési körülmények hatása a módszer teljesítményére. A módszer zavartűrését úgy vizsgáljuk, hogy szándékosan változtatjuk a mérés körülményeit (laboratóriumok, elemző személyek, készülékek, reagensek, elemzési napok, stb.) és vizsgáljuk azok következményeit. Szokásos számértékkel való kifejezése a reprodukálhatósághoz hasonló, relatív szórás, *RSD %*.

Robosztusság (*robustness*) megadja, hogy eredményeink milyen paraméter intervallumban adnak megbízható eredményt (pl. pH, ionerősség, hőmérséklet, stb.). Úgy vizsgáljuk, hogy szándékosan változtatjuk a mérési módszer paramétereit és vizsgáljuk azok következményeit.

Méréstartomány (*range*) az a koncentráció tartomány, ahol a kidolgozott módszer alkalmazható. A mennyiségi elemzés céljára a módszer méréstartományát az alkotókat különböző koncentrációban tartalmazó minták elemzésével, a válaszjel meghatározásával kell megállapítani, amelyre az adott feladatnál kielégítő pontosság és precizitás érhető el. Az analitikai mérőgörbét (min 5 pont + vak) az alkotókat különböző koncentrációban tartalmazó minták elemzési eredményeiből regresszióval számíthatjuk ki, általában a legkisebb négyzetek módszerének alkalmazásával. A méréstartományon kívül eső minták koncentrációját hígítással, vagy töményítéssel a kalibrált tartományba hozhatjuk.

Visszanyerés (*Recovery*) megmutatja, a mintában jelenlévő anyag, milyen hányadát tudjuk mérni, mivel a mintaelőkészítés, tárolás alatt anyagveszteségek lépnek fel (pl. extrakciós veszteség, anyag visszamarad a mátrixban, párolgás). A veszteségek kiszámításához kísérő (surrogate) standardot kell a mintához mintavételkor adni. A visszanyerés határfoka függ a mátrixtól, és a koncentráció tartománytól.

A környezetvédelmi szabványok használatával elkerülhető, hogy a mérés hitelességét teljes validálással bizonyítsuk. A szabványok átvételénél lényeges, hogy ezekben megadott paramétereket, eljárásokat pontosan kövessük, és csak a szabványban megadott körülmények közt (pl. pH, mátrix, koncentráció tartomány) alkalmazhatóak.

Az eredményeknek elfogadásához szükséges, hogy ezek a statisztikai próbáknak is megfeleljenek. Az eredményeknek a 95% konfidencia intervallumba (Student eloszlás t értéke, SD) kell esni. Ismételtetőséget varianciaanalízissel határozzuk meg (F-próba, t-próba).